



<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>5</sup> :</b>  <b>C07K 5/04, A61K 37/64</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> <b>WO 92/16549</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 1. Oktober 1992 (01.10.92)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/CH92/00054 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 17. März 1992 (17.03.92)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 818/91-0 18. März 1991 (18.03.91) CH  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> PENTAPHARM AG [CH/CH]; Engeltasse 109, CH-4052 Basel (CH).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) :</b> STÜRZEBECKER, Jörg [DE/DE]; Hubertusstr. 38, D-5089 Erfurt (DE). VIEWEG, Helmut [DE/DE]; In den Grundmatten 36, D-7888 Rheinfelden 3 (DE). WIKSTROEM, Peter [SE/CH]; Stallenmattstr. 49, CH-4104 Oberwill (CH).		<b>(74) Anwalt:</b> BRAUN, André; Murtengasse 5, CH-4051 Basel (CH).  <b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AT, AT (europäisches Patent), AU, BB, BE (europäisches Patent), BF (OAPI Patent), BG, BJ (OAPI Patent), BR, CA, CF (OAPI Patent), CG (OAPI Patent), CH, CH (europäisches Patent), CI (OAPI Patent), CM (OAPI Patent), CS, DE, DE (europäisches Patent), DK, DK (europäisches Patent), ES, ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GA (OAPI Patent), GB, GB (europäisches Patent), GN (OAPI Patent), GR (europäisches Patent), HU, IT (europäisches Patent), JP, KP, KR, LK, LU, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), MG, ML (OAPI Patent), MN, MR (OAPI Patent), MW, NL, NL (europäisches Patent), NO, PL, RO, RU, SD, SE, SE (europäisches Patent), SN (OAPI Patent), TD (OAPI Patent), TG (OAPI Patent), US.  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
<b>(54) Title:</b> PARASUBSTITUTED PHENYLALANINE DERIVATES  <b>(54) Bezeichnung:</b> PARA-SUBSTITUIERTE PHENYLALANIN-DERIVATE  <b>(57) Abstract</b>  D,L-, L- and D-phenylalanine derivatives having formula (I) defined in the first claim, in which R <sub>1</sub> stands for an amidino, guanidino, oxamidino, aminomethyl or amino group, have been discovered. These derivatives are effective as anti-coagulants or antithrombotic agents. The antithrombotically active compounds have low toxicity and may be perorally, anally, subcutaneously or intravenously administered.  <b>(57) Zusammenfassung</b>  D.L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der im Patentanspruch 1 definierten Formel (I), in denen R <sub>1</sub> für eine Amidino-, Guanidino-, Oxamidino-, Aminomethyl- oder Aminogruppe steht, wurden gefunden, die blutgerinnungshemmend resp. antithrombotisch wirksam sind. Die antithrombotisch wirksamen Verbindungen weisen eine geringe Toxizität auf und können peroral, anal, subkutan oder intravenös verabreicht werden.		

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Osterreich	FI	Finnland	MN	Mongolei
AU	Australien	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BB	Barbados	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BR	Brasilien	IE	Irland	RU	Russische Föderation
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Sowjet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Spanien	ML	Mali		

### Para-substituierte Phenylalanin-Derivate

---

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteinase-Inhibitoren, die als Grundstruktur Phenylalanin enthalten, wobei der aromatische Rest in para-Stellung substituiert ist. Durch Variation des Substituenten am Phenylrest, Einfügung saurer Aminosäuren in  $\alpha$ -Position bzw. C-terminale Einführung von insbesondere heterocycloaliphatischen Aminocarbonsäuren mit hydrophoben Eigenschaften wurden Inhibitoren mit verbesserter Bioverfügbarkeit gefunden.

Proteinase-Inhibitoren sind potentielle Arzneimittel, die zur Steuerung physiologischer Prozesse, welche durch Proteinase ausgelöst und unterhalten werden, verwendet werden können. Für zahlreiche endogene bzw. natürlich vorkommende Hemmstoffe ist gezeigt worden, dass sie in vivo die Aktivität von Proteinase beeinflussen und hyperproteolytische Zustände dämpfen können [Siehe Hörl, W.H. In: Design of Enzyme Inhibitors as Drugs, S. 573-581, (Sandler, M. and Smith, H.J., Eds.) Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press, 1989]. Der therapeutische Einsatz dieser relativ hochmolekularen Hemmstoffe ist allerdings wegen ihrer besonderen Proteinstruktur begrenzt. Da diese Hemmstoffe einerseits nach oraler Verabreichung im Darm nicht resorbierbar sind und andererseits eine antigene Aktivität

- 2 -

ausüben, wurde nach synthetischen kleinmolekularen Enzym-Inhibitoren Ausschau gehalten.

Die vier Klassen von Enzymen, die für Proteinasen-abhängige Prozesse verantwortlich sind, umfassen die Serin-, Thiol-, Metallo-, und Aspartat-Proteinasen. Serin-Proteinasen sind proteolytische Enzyme, die einen reaktiven Serin-Rest im aktiven Zentrum besitzen. Zur Trypsin-Familie der Serin-Proteinasen gehören Enzyme, die wie Trypsin als solches C-terminale Peptidbindungen der basischen Aminosäuren Arginin und Lysin spalten. In dieser Gruppe sind diejenigen Enzyme von besonderer physiologischer Bedeutung, welche im Blut Gerinnung und Fibrinolyse auslösen, Kinin freisetzen und die Komplement-Aktivierung bewirken oder solche, die selber Komponenten der genannten Enzymsysteme sind.

---

Die Blutgerinnung wird über zwei unterschiedliche Wege durch Zymogen-Aktivierung ausgelöst. Der erste, endogene Weg, führt über eine durch Blutkomponenten vermittelte Reaktionskette zur Blutgerinnung. Der zweite, exogene Weg führt über eine kürzere, auf einer Wechselwirkung zwischen Blut- und Gewebekomponenten beruhenden Reaktionskette zur Gerinnung. Beide Wege bewirken die Aktivierung des Zymogens Faktor X zur Serinprotease Faktor  $X_a$ , welche ihrerseits die Aktivierung des Prothrombins zur Fibrinogen-koagulierenden Serin-Protease Thrombin katalysiert. Als gemeinsames Produkt sowohl des endogenen als auch des exogenen Aktivierungsablaufs wurde Faktor  $X_a$  zunächst als ein bevorzugtes Zielenzym für hemmende Eingriffe in den Blutgerinnungsvorgang angesehen (Tidwell, R. R. et al., Thromb. Res. 19, 339-349, 1980). In jüngster Zeit wurde aber nachgewiesen, dass synthetische Inhibitoren des Faktors  $X_a$  in vitro und in vivo nicht gerinnungshemmend (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 54, 245-252, 1989) und antithrombotisch wirksam sind (Hauptmann, J. et al., Thromb. Haemostas. 63, 220-223, 1990). Aus diesem Grund konzentriert sich die Entwicklung von antikoagulativ wirkenden Hemmstoffen auf die Auffindung von Inhibitoren

- 3 -

des Thrombins.

Trypsin selbst kann hyperproteolytische Zustände im Pankreas, also in der Drüse, in der es als Zymogen gebildet wird, auslösen. Man muss davon ausgehen, dass Spuren von Trypsinogen in der Drüse zu Trypsin aktiviert werden und dass das gebildete Trypsin auch andere Proenzyme in die enzymatisch aktive Form überführt.

Die Ausschaltung der Trypsinaktivität durch Inhibitoren wäre demnach ein wirksamer Eingriff zur Verhinderung von Aktivierungsvorgängen. Da die Hemmung aber primär in der Drüse stattfinden muss, muss der Inhibitor in die Zellen des Pankreas gelangen. Der natürlich vorkommende Hemmstoff Aprotinin hat als Miniprotein in vivo dazu allerdings keine Chance, kann aber sekundäre Ereignisse

(Schock) günstig beeinflussen. Im Gegensatz dazu konnte mit kleinmolekularen Inhibitoren, die sich von der 4-Guanidinobenzoesäure ableiten, gezeigt werden, dass derartige Verbindungen in der Lage sind, bei der experimentellen Pankreatitis an der Ratte die Enzymaktivität sowohl in der Drüse als auch im Blut zu reduzieren (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986).

Zur Entwicklung von synthetischen Inhibitoren für Trypsin und seinen verwandten Enzymen sind Derivate des Benzamidins vielfach untersucht worden (Stürzebecher, J. et al., Acta Biol. Med. Germ. 35, 1665-1676, 1976).

Aminosäurederivate mit Benzamidin-Struktur und para-ständiger Amidinogruppe haben sich als günstige Grundstrukturen für die Entwicklung von wirksamen Hemmstoffen des Trypsins erwiesen. So ist das Aminosäure-Derivat Na-(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidinophenylalanin-piperidid zwar der bisher stärkste, beschriebene Thrombin-Hemmstoff ( $K_i = 6 \times 10^{-9}$  Mol/Liter) vom Benzamidintyp. Der als NAPAP bezeichnete Hemmstoff gehört aber mit einem  $K_i$  von  $7,9 \times 10^{-7}$  Mol/Liter auch zu den wirksamen Trypsin-Hemmstoffen (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 29, 635-642, 1983).

Es sind noch weitere Typen von Inhibitoren bekannt, die Trypsin bzw. Thrombin ebenfalls wirksam hemmen: Eine

erste Gruppe beinhaltet Peptidyl-arginin-chlormethylketone, z.B. Dns-Glu-Gly-Arg-CH<sub>2</sub>Cl, welches Trypsin hemmt (Kettner, C. et al., Meth. Enzymol. 80, 826-842, 1981) bzw. H-D-Phe-Pro-Arg-CH<sub>2</sub>Cl, welches auch Thrombin hemmt (Kettner, C. et al., Thromb. Res. 14, 969-973, 1979). Eine zweite Gruppe beinhaltet Peptidylargininaldehyde, z.B. Boc-D-Phe-Pro-Arg-H und H-D-Phe-Pro-Arg-H (Bajusz, S., Int. J. Peptide Protein Res. 12, 217-221, 1978), welche Trypsin und Thrombin mit vergleichbarer Affinität hemmen. Diese Inhibitoren sind jedoch instabil und können wegen ihrer grossen Reaktionsfähigkeit unerwünschte Nebenreaktionen verursachen. Trypsin und Thrombin werden in einer zeitabhängigen Reaktion ebenfalls durch das Boronsäurederivat Boc-D-Phe-Pro-Boro-Arg-C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (s. Europ. Patentanmeldung No. 0 293 881) gehemmt. Der selektive Thrombininhibitor (2R,4R)-4-Methyl-1-[N $\alpha$ -(3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-chinolinsulfonyl)-L-arginin]-2-pipecolincarbonsäure hat auch eine gewisse Trypsin-hemmende Aktivität (Kikumoto, R. et al., Biochemistry 23, 85-90, 1984).

Als therapeutisch verwendbare nicht-selektive Inhibitoren, die unter anderem Trypsin und Thrombin hemmen, sind das Methansulfonsäuresalz des 4-(6-Guanidino-hexanoyloxy)-benzoesäure-ethylesters (Muramatu, M. et al., Biochim. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972) und das Dimethansulfonsäuresalz der 6-Amidino-2-naphthyl-p-guanidinobenzoesäure (s. US Patent Nr. 4 454 338), das zur Behandlung der akuten Pankreatitis vorgeschlagen wurde (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986), beschrieben.

Alle bisher geprüften Benzamidinderivate besitzen für eine therapeutische Anwendung ungünstige pharmakodynamische und pharmakokinetische Eigenschaften. Sie werden bei oraler Applikation nicht im Darm resorbiert, werden schnell aus der Zirkulation eliminiert und ihre Toxizität ist relativ hoch. Das gilt sowohl für die Amide des N- $\alpha$ -arylsulfonylierten (Markwardt, F. et al., Thromb. Res. 17, 425-431, 1980), als auch für Amide des N- $\alpha$ -aryl-sulfonylaminoacylierten 4-Amidinophenylalanins (s. Patentanmeldung No.

DD-A-235 866). Verantwortlich für die unzureichenden pharmakologischen Eigenschaften ist die stark basische Amidinofunktion (Kaiser, B. et al., Pharmazie 42, 119-121, 1987). Versuche, die stark basische Amidinofunktion in hochwirksamen Inhibitoren durch schwächer basische Gruppen zu ersetzen, schlugen fehl; solche Veränderungen hatten einen bedeutenden Verlust an Wirkungsstärke zur Folge (Stürzebecher, J. et al., Pharmazie 43, 782-783, 1988). Auch die Einführung einer Carboxylgruppe in den Inhibitor zur Verminderung der Basizität der Amidinofunktion führte zum Abfall der Inhibitoraktivität. So sind Derivate des 4-Amidinophenylalanins, die C-terminal eine Aminosäure mit freier Carboxylgruppe besitzen, inhibitorisch völlig wirkungslos (Wagner, G. et al., Pharmazie 39, 16-18, 1984; Vieweg, H. et al., Pharmazie 39, 82-86, 1984).

Auch die Abwandlung von NAPAP durch Einführung eines Substituenten am  $\alpha$ -Stickstoff, die zu einer geringen Erhöhung der Antithrombinaktivität führte (s. Europ. Patentanmeldung No. FR-A-2 593 812) erbrachte keine Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften (Cadroy, Y. et al., Thromb. Haemostas. 58, 764-767, 1987).

Für die Entwicklung selektiver Hemmstoffe des Trypsins liegen inzwischen günstige Voraussetzungen vor. So sind die Röntgen-Kristallstrukturen der Komplexe von Trypsin nicht nur mit Benzamidin (Bode, W. und Schwager, P., J. Molec. Biol. 98, 693-717, 1975) und seinen einfachen Derivaten (Walter, J. und Bode, W., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 364, 949-959, 1983), sondern auch mit den Thrombinhemmstoffen  $\text{Na}-(2\text{-Naphthylsulfonyl})\text{-glycyl-4-amidinophenylalanin-piperidid}$  (Bode, W. et al., Eur. J. Biochem. 193, 175-182, 1990) und  $(2R,4R)\text{-4-Methyl-1-[Na-(3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-chinolinsulfonyl)-L-arginin]-2-pipecolin-carbonsäure}$  (Matsuzaki, T. et al., J. Biochem. 105, 949-952, 1989), die mit Trypsin ebenfalls stabile Komplexe bilden, bekannt.

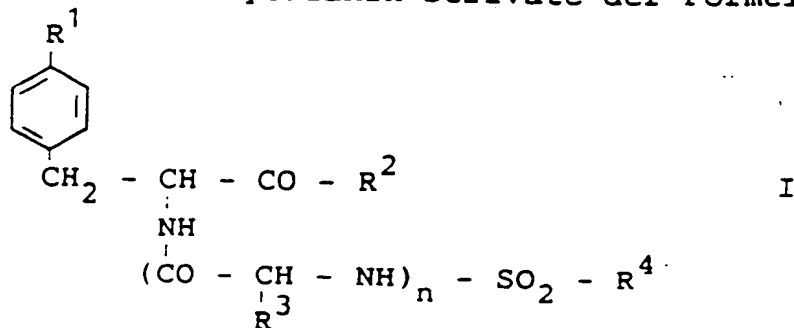
- 6 -

Ausgehend von den Differenzen in den Bindungsbereichen des aktiven Zentrums zwischen Trypsin und Thrombin, wurde versucht, durch Modifikation der Grundstrukturen therapeutisch verwendbare Trypsin-Inhibitoren mit guten pharmakologischen Eigenschaften zu konzipieren. So war zu erwarten, dass beispielsweise Verbindungen mit einer sauren Aminosäure anstelle von Glycin in dem Hemmstoff N $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidinophenylalanin-piperidid nicht mehr an Thrombin gebunden werden, da Thrombin in Position 192 einen Glutaminsäure-Rest besitzt (Bode, W. et al., Eur. J. Biochem. 193, 175-182, 1990). Demgegenüber sollte die Bindungsfähigkeit an Trypsin erhalten bleiben bzw. verbessert werden, da im Trypsin an dieser Stelle ein ungeladener Glutamin-Rest positioniert ist. In diesem Rahmen wurde beispielsweise N $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-aspartyl-4-amidinophenylalanin-piperidid hergestellt. Es wurde festgestellt, dass diese Verbindung nicht wie erwartet Trypsin selektiv hemmt, sondern überraschenderweise Thrombin. Es wurde ferner festgestellt, dass diese Verbindung verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften besitzt, und insbesondere nach subkutaner Verabreichung an Ratten durch den Darm resorbiert wird, im Blut über einen längeren Zeitraum in wirksamer, blutgerinnungshemmender Konzentration verfügbar bleibt und sehr wenig toxisch ist. Dies trifft auch für Verbindungen zu, die im C-terminalen Teil heteroaliphatische Aminosäuren tragen.

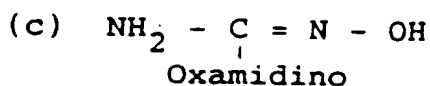
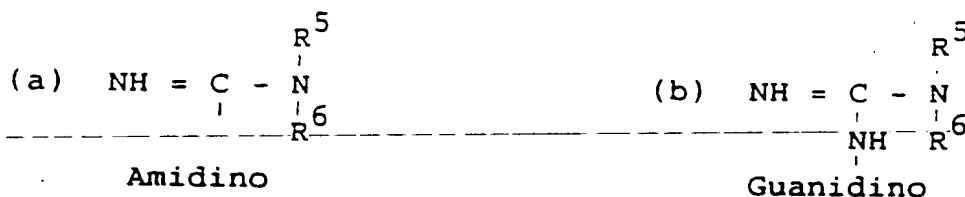


- 7 -

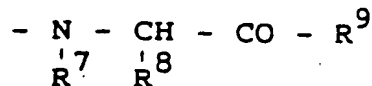
Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteinase-hemmende D,L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der Formel



in welcher  
 $\text{R}^1$  eine basische Gruppe der Formel



darstellt, wobei  $\text{R}^5$  und  $\text{R}^6$  in den Formeln (a) und (b) je Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest bezeichnen,  
 $\text{R}^2$  (f) OH, O-Alkyl, O-Cycloalkyl, O-Aralkyl sein kann,  
 (g) eine Gruppe der Formel

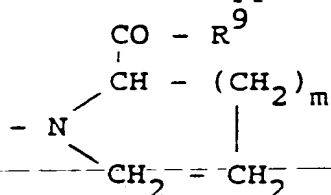


darstellt, in welcher  $\text{R}^7$  Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest und  $\text{R}^8$  einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest, einen 1- oder 2-Hydroxyethylrest, einen Methylmercaptoethylrest, einen Aminobutylrest, einen Guanidinopropylrest, einen Carboxy(niedrigen)alkylrest, einen Carboxamido(niedrigen)alkylrest, einen

- 8 -

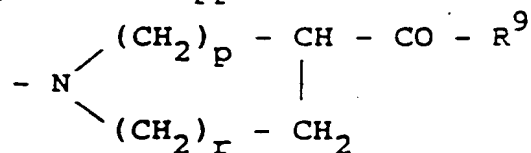
Phenyl(niedrigen)alkylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, einen Cyclohexyl- oder Cyclohexylmethylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, oder einen N-Heteroaryl(niedrigen)alkylrest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl, z.B. Imidazolylmethyl oder Indolylmethyl, bezeichnen, wobei die Gruppe (g) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann,

(h) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist, wobei die Gruppe (h) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann,

(i) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $p = r = 1$ ,  $p = 1$  und  $r = 2$  oder  $p = 2$  und  $r = 1$  sind und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist,

(k) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 mit einem niederen Alkyl-, Hydroxyalkyl- oder Hydroxyl-rest substituiert ist,

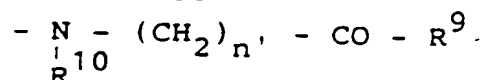
wobei an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (h), (i), (k) ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder

- 9 -

Cyclohexyl, in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert sein kann,

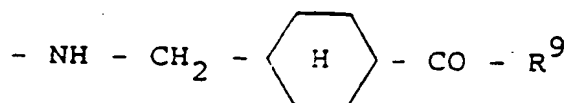
(l) eine Piperazylgruppe, die gegebenenfalls in p-Stellung mit einem niederen Alkylrest, einem Arylrest oder einem Alkoxycarbonylrest substituiert ist,

(m) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $n'$  die Zahlen 1 bis 6 und  $\text{R}^{10}$  Wasserstoff oder den Methyl- oder Cyclohexylrest bezeichnen und  $\text{R}^1 = (\text{b})$  bis (e) sein kann,

(n) eine Gruppe der Formel



darstellt, wobei  $\text{R}^9$  in den Formeln (g), (h), (i), (l), (m) und (n) eine Hydroxyl-, geradkettige oder verzweigte niedrige Alkoxy, Cycloalkoxy oder eine Aralkoxy Gruppe bezeichnet,

oder

(o) eine Kombination von 2 bis 20, vorzugsweise 2 bis 5, insbesondere 2 oder 3, der von den unter (g), (h), (i), (k), (l), (m) und (n) definierten Gruppen abgeleiteten, durch Amidbindungen verknüpften Resten ( $\text{R}^9 =$  Einfachbindung) darstellt, wobei der C-terminale Rest gegebenenfalls mit einem Rest  $\text{R}^9$  verknüpft ist,

$\text{R}^3$  Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkyl-, Aralkyl-, Carboxyalkyl-, Alkoxycarbonylalkyl-, Carboxamido-alkyl-, Heteroarylalkyl- oder einen 1- oder 2-Hydroxyethyl-Rest darstellt, wobei  $n$  die Zahl 0 oder 1 bezeichnet und die gegebenenfalls eingeschobene Aminosäure racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann,

und

$\text{R}^4$  einen Arylrest, z.B. Phenyl, Methylphenyl,  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Naphthyl oder 5-(Dimethylamino)-naphthyl, oder einen Heteroarylrest, z.B. Chinolyl, darstellt, wobei niedrig 1-4 Kohlenstoffatome bedeutet,

- 10 -

und deren Salze mit Mineralsäuren oder organischen Säuren.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 =$  Amidino (a) können nach den nachfolgend beschriebenen, an sich bekannten Methoden hergestellt werden.

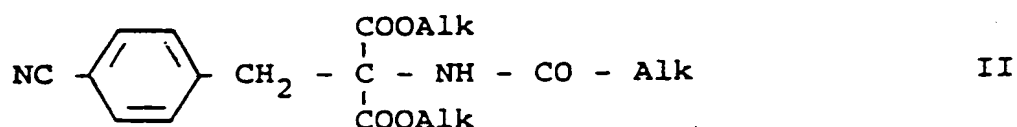
Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Phenylalanin-Derivaten sind Verbindungen, bei denen

$R^2$  O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl falls  $n=0$ , ist, einen heterocycloaliphatischen Rest, der in den Formeln (h), (i), (k) und (l) näher erläutert ist, darstellt,

$R^4$   $\beta$ -Naphthyl, bezeichnet und

n die Zahl 1, bedeutet,  
von besonderer Bedeutung.

4-Cyanbenzyl-acylamino-malonsäurediester der allgemeinen Formel II,



in welcher Alk vorzugsweise  $-\text{CH}_3$  oder  $-\text{C}_2\text{H}_5$  bedeutet, werden in einer Mischung von 3 N HCl und Eisessig durch rückfliessendes Erhitzen zu 4-Cyanphenylalanin III



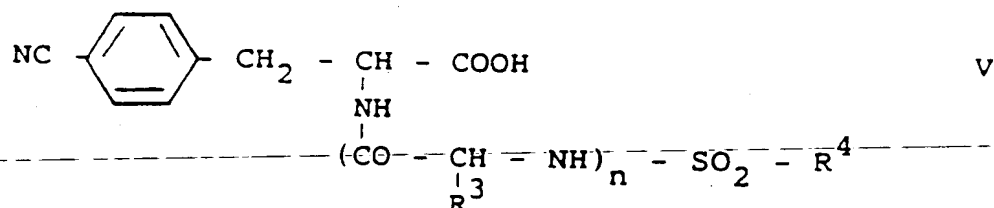
- 11 -

umgesetzt, dessen Veresterung mit einem niederen Alkohol, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure oder Schwefelsäure zum 4-Cyanphenylalaninalkylester IV



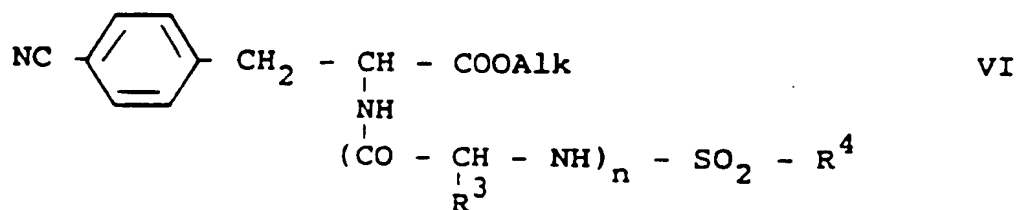
führt.

Durch Sulfonylierung der Verbindungen III mit einem Aryl- bzw. Heteroarylsulfonylchlorid oder Acylierung mit einem sulfonylierten Aminosäurehalogenid in Gegenwart einer Base werden die Verbindungen der allgemeinen Formel V,



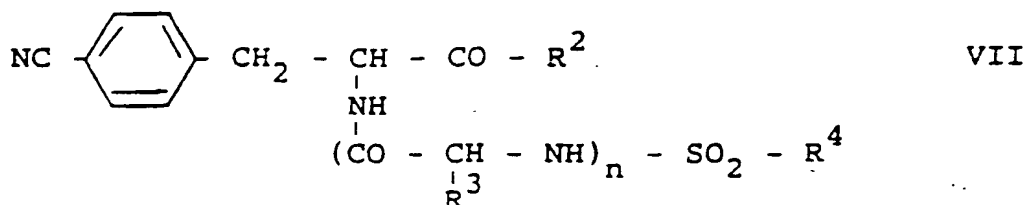
in welcher  $n = 0$  oder  $1$  ist und  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  die in der allgemeinen Formel I beschriebenen Bedeutungen besitzen, erhalten.

Nach einer zweiten Variante werden zur Darstellung der Verbindungen V sulfonylierte Aminosäuren mit dem Carbonsäureester IV nach dem DCC-Verfahren zunächst zu Verbindungen der allgemeinen Formel VI



mit Carbonsäureesterstruktur umgesetzt, aus denen nach alkalischer Hydrolyse die Verbindungen V erhalten werden. Die Bedeutungen von  $n$ ,  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  in der allgemeinen Formel VI entsprechen denen der Verbindungen V.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel VII,



in welcher  $\text{R}^2$  die in der allgemeinen Formel I unter (g), (h), (i), (k), (l), (m), (n) und (o) sowie  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  die in dieser Formel genannten Bedeutungen besitzen und  $\text{R}^9$  eine geradkettige oder verzweigte Alkoxy- bzw. Benzyloxy-Gruppe darstellt, werden gemäss einer ersten Methodenvariante durch Umsetzung der Verbindungen V mit einem entsprechenden Aminosäureester nach dem Mischanhydridverfahren dargestellt, indem die Verbindungen der Struktur V mit vorzugsweise Chlorameisensäureisobutylester in Gegenwart einer geeigneten tertiären Base, z.B. 4-Methylmorpholin, bei  $-15^\circ$  bis  $-20^\circ\text{C}$  in einem aprotischen Lösungsmittel zur Reaktion gebracht und anschliessend mit einem Aminosäureester oder Amin umgesetzt werden.

Gemäss einer zweiten Methodenvariante werden die Verbindungen der allgemeinen Formel V nach dem DCC-Verfahren mit entsprechenden Aminosäureestern umgesetzt, indem die Verbindungen V in einem geeigneten aprotischen Lösungsmittel mit Dicyclohexylcarbodiimid in Gegenwart von 1-Hydroxybenzotriazol zur Reaktion gebracht und mit den genannten Aminosäureestern oder Aminen zu VII umgesetzt werden.

Gemäss einer dritten Methodenvariante werden die Verbindungen der Struktur V nach Überführung in aktive Ester mit beispielsweise N-Hydroxysuccinimid, 2,3,4,5,6,-Pentafluorphenol oder p-Nitrophenol in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid isoliert bzw. ohne zwischenzeitliche Isolierung mit entsprechenden Aminosäureestern oder Aminen zu Verbindungen der allgemeinen Formel VII umgesetzt.

Gemäss einer vierten Methodenvariante werden Verbindungen der Struktur V, bei denen  $n = 0$  ist, mit beispielsweise Thionylchlorid in Säurechloride übergeführt, die anschliessend mit entsprechenden Aminosäureestern oder

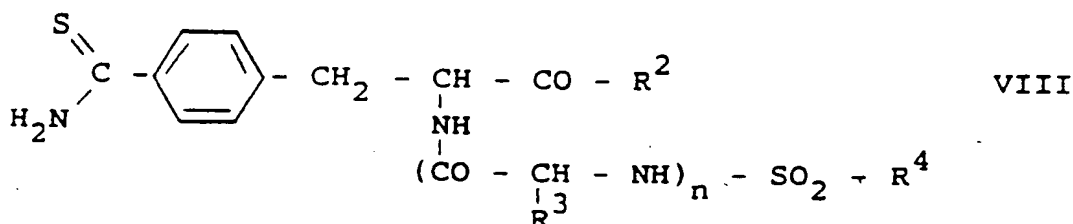
- 13 -

Aminen zu Verbindungen der allgemeinen Formel VII umgesetzt werden.

Durch milde alkalische oder saure Hydrolyse mit beispielsweise verdünnter NaOH oder Trifluoressigsäure von Verbindungen der Struktur VII werden die Verbindungen mit Carbonsäurestruktur der allgemeinen Formel VII, wobei  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  die in der allgemeinen Formel I genannten Bedeutungen besitzen und das in  $R^2$  definierte  $R^9 = OH$  ist, erhalten.

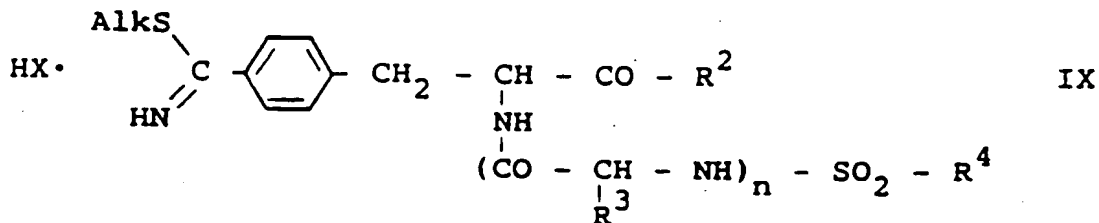
Ausgehend von den Verbindungen mit Carbonsäurestruktur VII können nach den vorher beschriebenen Verfahren weitere Aminosäuren gekoppelt werden.

Durch Addition von  $H_2S$  an VII mit Carbonsäure- oder Carbonsäureesterstruktur in Pyridin in Gegenwart von Triethylamin werden die Thioamide der allgemeinen Formel VIII



erhalten, wobei die Bedeutungen der Substituenten  $R^2$ ,  $R^3$  und  $R^4$  denen der allgemeinen Formel I entsprechen.

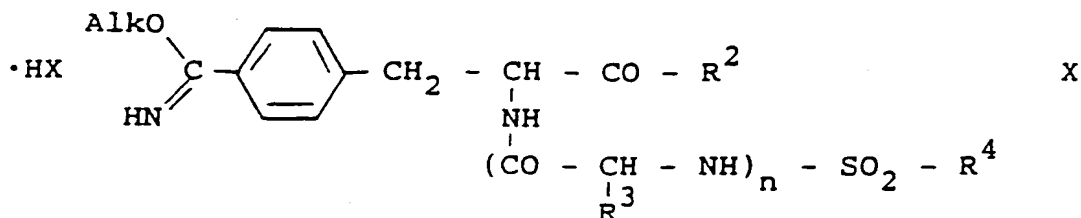
Durch Umsetzung der Verbindungen VIII mit einem Alkylhalogenid, vorzugsweise Methyljodid, werden die Thioimid-säureesterhalogenide IX



erhalten. Die Bedeutungen von  $n$  und  $R^2$  bis  $R^4$  entspricht denen der allgemeinen Formel I, Alk stellt niedrig Alkyl, vorzugsweise  $-CH_3$ , dar und X bedeutet Halogen, im allgemeinen Iod.

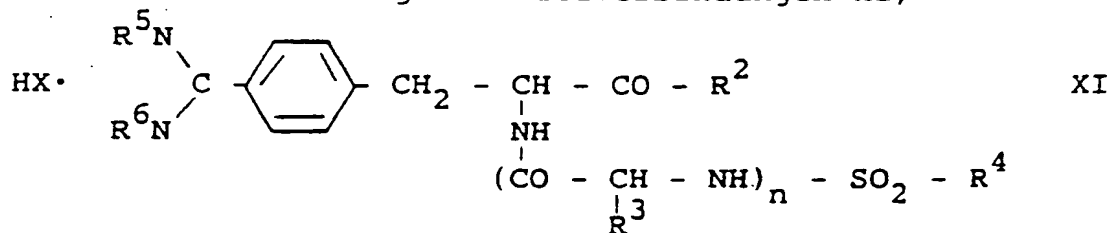
Ausserdem können die Verbindungen VII mit einem niederen Alkohol, gegebenenfalls in Anwesenheit eines

Lösungsmittels wie beispielsweise Dioxan oder Chloroform, in Gegenwart von wasserfreiem Halogenwasserstoff in Imid-säureesterhalogenide X



übergeführt werden, wobei Verbindungen mit freier  $\text{-COOH-}$  Gruppe gleichzeitig mit dem verwendeten Alkohol verestert werden. Die Bedeutungen von  $n$  und  $R^2$  bis  $R^4$  entsprechen denen der allgemeinen Formel I, Alk stellt niedrig Alkyl, vorzugsweise  $\text{-CH}_3$  oder  $\text{-C}_2\text{H}_5$ , dar und X bedeutet Halogen, im allgemeinen Chlor.

Zur Darstellung der Zielverbindungen XI,



mit  $n = 0$  oder  $1$  und den Bedeutungen der Substituenten  $R^1$  bis  $R^6$  analog denen der allgemeinen Formel I und  $X =$  Halogen, werden die Thioimidsäureestersalze IX in alkoholischer Lösung mit Ammoniumacetat bzw. einem Alkylammoniumacetat oder die Imidsäureestersalze X in alkoholischer Ammoniaklösung zu XI umgesetzt.

Verbindungen XI mit einem t-Butoxy-Rest ( $R^9$ ) im Substituenten  $R^2$  können anschliessend durch Hydrolyse mit Trifluoressigsäure in Verbindungen XI mit Carbonsäurestruktur ( $R^9 = OH$ ) übergeführt werden.

Verbindungen XI mit einer OH-Gruppe ( $R^2$  oder  $R^9$ ) können anschliessend mit vorzugsweise niederen aliphatischen ( $C_1$ - $C_8$ ), cycloaliphatischen oder araliphatischen Alkoholen, in Gegenwart von Chlorwasserstoff oder p-Toluolsulfonsäure in Verbindungen XI mit Carbonsäureesterstruktur ( $R^2$ ,  $R^9$  = O-Alkyl, O-Cycloalkyl, O-Aralkyl) übergeführt werden.

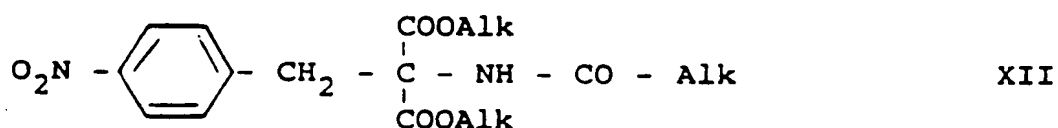


Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 =$  Oxamidino (c) werden auf dem gleichen Syntheseweg wie die Verbindungen mit  $R^1 =$  Amidino (a), über die Zwischenprodukte der Formeln II bis IX, dargestellt. Im letzten Syntheseschritt werden die Thioimidsäureestersalze IX mit Hydroxylammoniumacetat zu Verbindungen der allgemeinen Formel I umgesetzt, wobei  $R^1$  die Oxamidino-Gruppe (c) darstellt.

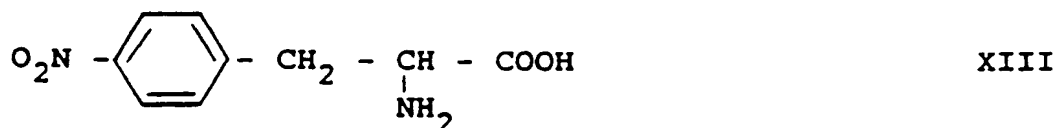
Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 =$  Aminomethyl (d) werden ebenfalls auf diese Weise über die Zwischenprodukte der Formeln II bis VII dargestellt. Um zu den Zielverbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 = -CH_2 - NH_2$  zu gelangen, werden die Cyanverbindungen VII katalytisch, beispielsweise mit Raney-Nickel/Wasserstoff in alkoholischer Lösung in Gegenwart von Ammoniak, zu den Aminomethylverbindungen reduziert. Die erhaltenen freien Basen werden in geeigneter Weise in Salze, vorzugsweise Hydrochloride, übergeführt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit  $R^1 =$  Guanidino (b) können prinzipiell nach dem gleichen Syntheschema wie die mit Amidinostruktur (a) dargestellt werden.

Dazu werden 4-Nitrobenzyl-acylamino-malonsäurediester der allgemeinen Formel XII,

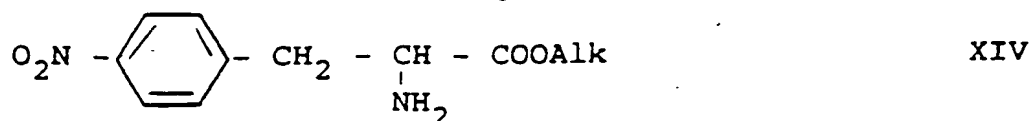


in welcher Alk vorzugsweise  $-CH_3$  oder  $-C_2H_5$  bedeutet, durch rückfliessendes Erhitzen in einer Mischung von 3 N HCl und Eisessig zu 4-Nitrophenylalanin XIII



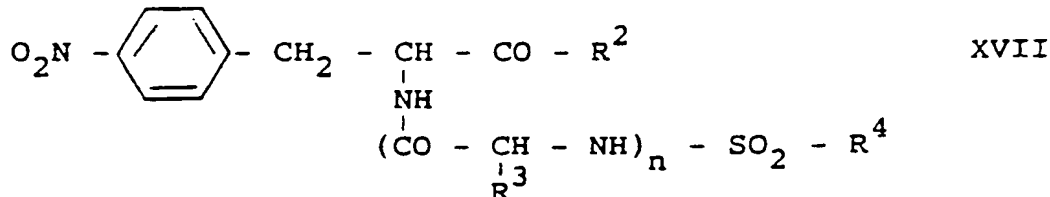
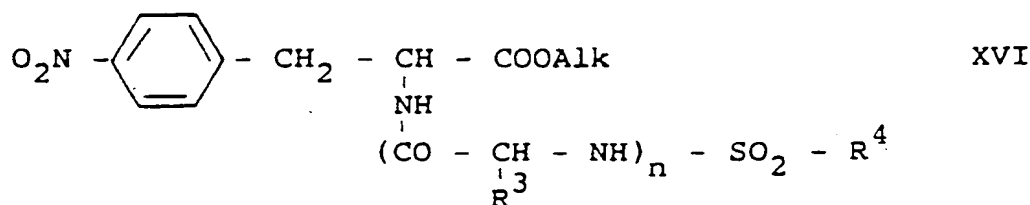
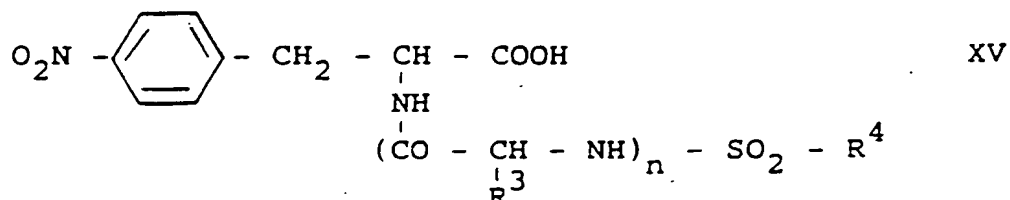
umgesetzt, dessen Veresterung mit einem niederen Alkohol, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure, Schwefelsäure oder Chlorwasserstoff zum 4-Nitrophenylalaninalkylester XIV

- 16 -



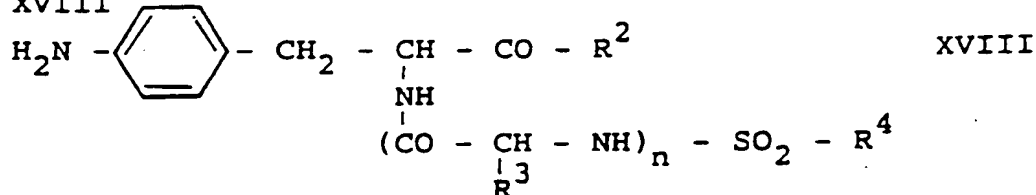
führt.

Die Verbindungen XV, XVI und XVII



werden auf die gleiche Weise erhalten wie die entsprechenden Cyanverbindungen V bis VII, wobei auch die Bedeutungen von  $n$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  entsprechend sind.

Durch katalytische Hydrierung mittels beispielsweise Raney-Nickel/Wasserstoff in einem geeigneten Lösungsmittel werden aus XVII die Aminoverbindungen der allgemeinen Formel XVIII



erhalten, die mittels eines geeigneten Guanylierungsreagens, beispielsweise 1-Amidino-3,5-dimethyl-pyrazol-nitrat, zu den Guanidinoverbindungen der allgemeinen Formel I mit  $\text{R}^1 = \text{Guanidino}$  (b) umgesetzt werden.

Verbindungen mit der allgemeinen Formel I mit  $\text{R}^1 = \text{Guanidino}$  (b), Oxamidino (c), Aminomethyl (d) bzw. Amino (e) und einem t-Butoxy-Rest ( $\text{R}^9$ ) im Substituenten  $\text{R}^2$  können

- 17 -

durch Hydrolyse mit Trifluoressigsäure in Verbindungen mit Carbonsäurestruktur ( $R^9 = OH$ ) übergeführt werden, die anschliessend durch Veresterung mit niederen Alkoholen, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von Chlorwasserstoff oder p-Toluolsulfonsäure zu Verbindungen mit Carbonsäure-esterstruktur ( $R^9 = \text{Alkoxy}$ ) umgesetzt werden können.

Die biologische Aktivität der erfindungsgemässen Verbindungen wurde sowohl in vitro als auch in vivo bestimmt. Zur Charakterisierung der Inhibitoraktivität in vitro wurden die Dissoziationskonstanten  $K_i$  für die Hemmung von Trypsin bzw. der verwandten Enzyme Thrombin, Plasmin, Faktor  $X_a$ , tPA, glanduläres Kallikrein, Faktor  $XII_a$  und Plasmakallikrein nach der Formel

$$K_i = \frac{[E] \cdot [I]}{[EI]}$$

in welcher [E] die Konzentration an freiem Enzym, [I] die Konzentration an freiem Inhibitor und [EI] die Konzentration an Enzym-Inhibitor-Komplex bezeichnen, gemessen (Dixon, Biochem. J. 55, 170-173, 1953). Je kleiner der  $K_i$ -Wert für ein geprüftes Enzym ist, desto grösser ist die Affinität des Inhibitors für das Enzym und desto kleiner ist die zur Hemmung des Enzyms, z.B. Thrombin, benötigte Menge Inhibitor.

In vitro wurden verschiedene Gerinnungstests benutzt, um die Wirksamkeit der Hemmstoffe gegenüber der durch Thrombin ausgelösten Gerinnung seines natürlichen Substrates Fibrinogen zu bestimmen. Dazu wurde in Human-Plasma die Thrombinzeit (TT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und die Prothrombinzeit (PT, Quickwert) bestimmt.

Die Toxizität der erfindungsgemässen Verbindungen wurde durch Bestimmung der  $LD_{50}$  (= Dosis, die bei 50% der Versuchstiere während einer Beobachtungsdauer von einer Woche zum Tode führt) an der Maus nach intravenöser bzw.

- 18 -

peroraler Verabreichung ermittelt.

Zur pharmakokinetischen Charakterisierung wurde die Plasmakonzentration ausgewählter Derivate nach subkutaner (s.c.) und peroraler (p.o.) Applikation an Ratten nach folgendem dreistufigem Verfahren bestimmt:

1. Eine Lösung der zu prüfenden Substanz in physiologischer Kochsalzlösung wurde der Flüssigkeits-Hochdruckchromatographie (HPLC = high pressure liquid chromatography) unterworfen, um den für die zu prüfende Substanz charakteristischen Peak bei der unter den gewählten Versuchsbedingungen substanzspezifischen Retentionszeit zu ermitteln.

2. Die zu prüfende Substanz wurde in vitro in Rattenplasma gelöst. Diese Lösung wurde ebenfalls der HPLC unterworfen, um festzustellen, ob der für die Substanz charakteristische Peak bei der substanzspezifischen Retentionszeit erneut erscheinen würde.

3. Die zu prüfende Substanz wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und in einer Dosis von 5 bzw. 100 mg pro kg Körpergewicht s.c. bzw. p.o. an Ratten verabreicht. In Zeitintervallen von 15 Minuten wurden Blutproben entnommen, aus denen durch Zentrifugation Plasmaproben hergestellt wurden, welche ihrerseits der HPLC unterworfen wurden, um festzustellen, ob der für die Substanz charakteristische Peak bei der substanzspezifischen Retentionszeit wiederum in Erscheinung treten würde.

LEGENDE ZU ZUSAMMENSTELLUNG

- LS - Lösungsmittelsystem (siehe unten)  
 $R_f$  - Retentionsfaktor, bei Angabe von 2  
 $R_f$ -Werten, Doppelfleckbildung durch  
Isomerie

Zur Durchführung der dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden MERCK-Dünnschicht-Fertigplatten mit Kieselgel 60, F 254, als Beschichtung und die folgenden Lösungsmittelsysteme (LS) verwendet:

LS 1: organische Phase von Ethylacetat/Essigsäure/Wasser  
(4/1/2)

LS 2: Chloroform/Methanol/Essigsäure (40/4/1)

Sprühreagenzien: Ninhydrin - für primäre und sekundäre  
aliphatische Aminogruppen

4-Dimethylaminobenzaldehyd - für primäre aromatische Amino-  
gruppen

Zur Durchführung der Säulenchromatographie zwecks Reinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel 60 mit einer Korngrösse von 0,035 - 0,070 mm verwendet.

ABKÜRZUNGEN in Beispielen 1 - 11

- TEA - Triethylamin  
HOBT - 1-Hydroxybenzotriazol  
DCC - Dicyclohexylcarbodiimid  
NMM - 4-Methylmorpholin  
DMF - Dimethylformamid  
THF - Tetrahydrofuran  
TFA - Trifluoressigsäure  
HOSu - N-Hydroxysuccinimid  
dc - dünnschichtchromatographisch

- 20 -

Beispiel 1N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-(D,L)-pipecolinsäure (8)(4-Cyanbenzyl)-acetamino-malonsäure-diethylester (1)

10,0 g 4-Cyanbenzylbromid und 11,0 g Acetamino-malonsäure-diethylester wurden in 100 ml abs. Dioxan gelöst und unter Rühren eine Natriumethylatlösung (1,15 g Natrium/50 ml abs. Ethanol) zugetropft. Der Ansatz wurde 5 Stunden unter Rückfluss erhitzt, anschliessend ausgefallenes NaBr abfiltriert und das Filtrat bis zur beginnenden Kristallisation im Vakuum eingeeengt. Es wurden 250 ml Wasser hinzugefügt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 81%, Smp. 166-168°C.

4-Cyan-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (2)

12,0 g der Verbindung 1 wurden in einer Mischung aus 32 ml Eisessig und 64 ml 3 N HCl 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde in Methanol gelöst und über einer Kolonne (Sephadex<sup>R</sup> LH-20, Pharmacia) mit Methanol als Eluierungsmittel chromatographisch gereinigt. Ausbeute: 70%, Smp. 226-228°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (3)

11,5 g der Verbindung 2 wurden in 160 ml 1 N KOH gelöst, eine Lösung von 12,5 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 100 ml Ether zugegeben und die Mischung 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach etwa 1,5 Stunden das Kaliumsalz der Verbindung 3 auszukristallisieren begann. Anschliessend wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen,

- 21 -

unter Erwärmen in Wasser gelöst und mit 3 N HCl angesäuert, wobei die Verbindung 3 auskristallisierte. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 60%, Smp. 184-186°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-  
pipecolinsäure-ethylester (4)

1,35 g (D,L)-Pipecolinsäure-ethylester und 0,8 g NMM wurden in 20 ml Ethylacetat gelöst, eine Lösung von 3,0 g des aus Verbindung 3 und Thionylchlorid erhaltenen Säurechlorids in 30 ml Ethylacetat zugetropft und der Ansatz 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 65%, Smp. 164-166°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-  
pipecolinsäure (5)

2,0 g der Verbindung 4 wurden in einer Mischung aus je 20 ml Methanol und 1 N NaOH suspendiert und der Ansatz bis zur vollständigen Verseifung (dc Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels im Vakuum abdestilliert und die verbleibende Lösung mit 1 N HCl angesäuert. Das ausgefallene, amorphe Produkt wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 90%.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenyl-  
alanyl-(D,L)-pipecolinsäure (6)

1,0 g der Verbindung 5 wurde in 15 ml Pyridin und 1 ml TEA gelöst, in die Lösung 10 Minuten H<sub>2</sub>S eingeleitet und der Ansatz 48 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der

- 22 -

Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit 1 N HCl ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 1 x mit Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das isolierte gelbe, amorphe Produkt wurde in der erhaltenen Form weiterverarbeitet. Ausbeute: 85%.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (7)

1,0 g der Verbindung 6 wurde in 20 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 3,0 g Methyljodid versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt, wobei Verbindung 7 auszukristallisieren begann. Es wurde noch 24 Stunden im Kühlschrank stehengelassen, der Niederschlag abgesaugt, mit Aceton/Ether 1:1 gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 67%, Smp. 203-205°C (Zers.).

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (8)

0,6 g der Verbindung 7 wurden in 10 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,1 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethanol gelöst und Verbindung 8 mit Ether gefällt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. ab 185°C.

Beispiel 2

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin und -methylester (15, 16)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycin (9)

Einer Lösung von 16,5 g Glycin in 440 ml 1 N NaOH wurde eine Lösung von 45 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 200 ml



- 23 -

Ether zugesetzt und das Reaktionsgemisch 4 Stunden intensiv bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die wässrige Phase mit 3 N HCl angesäuert, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 76%, Smp. 153-154°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (10)

10,0 g der Verbindung 2 wurden in 135 ml 1 N NaOH gelöst, eine Lösung von 11,0 g des aus Verbindung 9 und Thionylchlorid erhaltenen (2-Naphthylsulfonyl)-glycylchlorids in 120 ml Ethylacetat zugegeben und der Ansatz 3 Stunden intensiv gerührt. Anschliessend wurde eine geringe Menge unlösliches Nebenprodukt abfiltriert, die wässrige Phase mit 3 N HCl angesäuert und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 1 x mit Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend abdestilliert. Der verbleibende Rückstand kristallisierte beim Anreiben mit Ether. Es wurden 50 ml Ether zugefügt, der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 68%, Smp. 156-158°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-t-butylester (11)

0,61 g Sarcosin-t-butylester-hydrochlorid wurden in 4 ml DMF gelöst, die Lösung mit 0,74 ml NMM und einer Lösung von 1,6 g des aus der Verbindung 10, HOSu und DCC erhaltenen N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-OSu-esters in 20 ml THF versetzt und das Reaktionsgemisch 16 Stunden gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, die Lösung mit 10%iger Zitronensäure, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/

- 24 -

Methanol 95:5 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 55%, Smp. 134-136°C (aus Ethylacetat).

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-t-butylester (12)

1,0 g der Verbindung 11 wurde analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 89%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-t-butylester-hydroiodid (13)

0,85 g des Thioamids 12 wurden in 15 ml Aceton gelöst, 1,5 g Methyljodid zugefügt und die Lösung 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt, wobei Verbindung 13 auskristallisierte. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Aceton/Ether 1:1 gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 94%, Smp. ab 136°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-t-butylester-hydroiodid (14)

0,85 g der Verbindung 13 wurden in 15 ml Methanol gelöst, 0,16 g Ammoniumacetat zugefügt und analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 88%, amorphes Pulver.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-hydrochlorid (15)

0,62 g der Verbindung 14 wurden in 3 ml TFA gelöst und 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der ölige Rückstand in 10 ml Methanol gelöst und die Lösung mit ethanolischer Ammoniaklösung auf pH 7,4 gebracht. Nach 12-stündigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde das auskristallisierte Betain von 15 abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet.

- 25 -

Zur Überführung in das Hydrochlorid wurde das Betain in 5 ml Methanol suspendiert, die Suspension mit einigen Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl angesäuert und Verbindung 15 aus der erhaltenen Lösung mit Ether ausgefällt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 64%, Smp. ab 170°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-methylester-hydrochlorid (16)

0,2 g der Verbindung 15 wurden in 4 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 30 Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Durch Zugabe von Ether wurde Verbindung 16 aus der Reaktionslösung ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 89%, Smp. ab 120°C.

Beispiel 3

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (21)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester (17)

1,5 g (D,L)-Pipecolinsäure-ethylester wurden in 10 ml THF gelöst, 1,4 g HOBT zugefügt und der Ansatz auf 0°C abgekühlt. Nach Zugabe einer Lösung von 3,0 g der Verbindung 10 in 25 ml THF sowie 1,71 g DCC wurde über Nacht gerührt. Anschliessend wurde das ausgefallene Harnstoffderivat abfiltriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen, die Lösung mit Wasser, 10%iger Zitronensäure, gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 63%,

- 26 -

amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (18)

2,4 g der Verbindung 17 wurden in einer Mischung aus je 25 ml 1 N NaOH und Methanol gelöst und bis zur vollständigen Verseifung (dc Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurden etwa 30 ml Lösungsmittel abdestilliert, die verbleibende Lösung mit 3 N HCl angesäuert, 100 ml Wasser zugefügt und der gebildete Niederschlag nach mehrstündigem Stehen im Kühlschrank abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel 60-(Chloroform/Methanol 90:10 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 77%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (19)

1,7 g der Verbindung 18 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 94%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (20)

1,7 g der Verbindung 19 wurden in 40 ml Aceton gelöst, 6,0 g Methyljodid zugesetzt und die Lösung 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz stehengelassen. Anschliessend wurden 50 ml Ether zugefügt, wobei Verbindung 20 zunächst ölig anfiel. Nach Abgiessen des überstehenden Lösungsmittels und Durcharbeiten mit Ether konnte ein festes, amorphes Produkt erhalten werden. Ausbeute: 76%.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (21)

- 27 -

1,6 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 20 wurden in 15 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,28 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 30 ml Methanol gelöst und Verbindung 21 mit Ethylacetat ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ethylacetat und Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 75%, Smp. 197-201°C.

#### Beispiel 4

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure und -methylester (26, 27)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-ethylester (22)

3,0 g der Verbindung 10 wurden in 30 ml THF gelöst und die Lösung mit 0,7 g NMM versetzt, wobei das NMM-Salz von Verbindung 10 ausfiel. Nach Zugabe von 30 ml DMF wurde unter Rühren auf -4°C abgekühlt, der Suspension 0,98 g Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und 30 Minuten bei -4°C gerührt. Danach wurde eine Lösung von 1,62 g Isonipecotinsäure-ethylester in 20 ml THF zugesetzt, weitere 60 Minuten bei -4°C gerührt und dies bei Raumtemperatur über Nacht fortgesetzt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand mit Methanol angerieben, wobei Kristallisation eintrat. Es wurden 50 ml 50%iges Methanol zugefügt, abgesaugt und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 68%, Smp. 169-171°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (23)

2,5 g der Verbindung 22 wurden in einer Mischung aus je 25 ml 1 N NaOH und Methanol gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Hälfte des

- 28 -

Lösungsmittels abdestilliert, die verbleibende Lösung mit 1 N HCl angesäuert und 150 ml Wasser zugesetzt. Nach mehrstündigem Stehen wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 92%, Smp. ab 110°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (24)

2,1 g der Verbindung 23 wurden in 20 ml Pyridin und 2 ml TEA gelöst und analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene feste Produkt wurde in 20 ml Methanol suspendiert, abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, Smp. 234-237°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-hydroiodid (25)

1,2 g der Verbindung 24 wurden unter leichtem Erwärmen in 2 ml DMF gelöst, der Lösung 50 ml Aceton zugesetzt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 4,0 g Methyljodid versetzt und das Reaktionsgemisch 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde in 250 ml Ether gegossen, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 74%, amorphes Pulver.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-hydrochlorid (26)

0,8 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 25 wurden in 15 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,15 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt, wobei das Betain von 26 auskristallisierte. Nach mehrstündigem Stehen wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 80%, Smp. 235-242°C.

- 29 -

Die Überführung in das Hydrochlorid erfolgte in der unter 15 beschriebenen Weise. Ausbeute: 91%, Smp. ab 165°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester-hydrochlorid (27)

0,2 g der Verbindung 26 wurden in 5 ml abs. Methanol gelöst, 50 Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl zugefügt und die Lösung 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde Verbindung 27 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, Smp. ab 145°C.

Beispiel 5

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -(D,L)-aspartyl- und - $\beta$ -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid (35-37)

4-Cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (28)

20 g der Verbindung 2 wurden in 150 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung unter Eiskühlung mit 15 g konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und 24 Stunden rückfliessend erhitzt. Anschliessend wurde das Methanol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit 3 N NaOH alkalisiert und mit 500 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 2 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde in 20 ml Methanol gelöst und die Lösung mit methanolischer Salzsäure angesäuert, wobei Verbindung 28 bereits auszukristallisieren begann. Nach Zugabe von 400 ml Ether wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. 190-192°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-asparaginsäure (29)

- 30 -

1,0 g (D,L)-Asparaginsäure- $\beta$ -t-butylester wurde in 35 ml 0,33 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung gelöst, eine Lösung von 1,42 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 15 ml Ether zugegeben und das Reaktionsgemisch 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei das Natriumsalz der Verbindung 29 ausfiel. Anschliessend wurden 100 ml Wasser zugefügt und der Niederschlag unter leichtem Erwärmen gelöst. Die erhaltene Lösung wurde 2 x mit je 50 ml Ether ausgeschüttelt, die wässrige Phase mit 1 N HCl angesäuert und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 66%, Smp. 138-140°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester (30)

2,77 g der Verbindung 28 wurden in 15 ml DMF gelöst, 1,28 ml NMM, 1,77 g HOBT und 2,27 g DCC sowie eine Lösung von 4,0 g der Verbindung 29 in 40 ml THF hinzugefügt und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Die Aufarbeitung und säulenchromatographische Reinigung erfolgte analog 17. Ausbeute: 85%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (31)

4,22 g der Verbindung 30 wurden in einer Mischung aus 35 ml Methanol und 15 ml 1 N NaOH suspendiert und der Ansatz 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die erhaltene Lösung mit 200 ml Wasser versetzt, mit 1 N HCl angesäuert und 10 Stunden stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 96%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-piperidid (32)



- 31 -

2,5 g der Verbindung 31 wurden in 30 ml THF gelöst, die Lösung nach Abkühlen auf  $-18^{\circ}\text{C}$  mit 0,52 ml NMM und 0,62 ml Chlorameisensäure-isobutylester versetzt und 15 Minuten gerührt. Danach wurden 0,67 ml Piperidin zugegeben, weitere 90 Minuten bei  $-18^{\circ}\text{C}$  und schliesslich bis zum Erreichen von Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte analog 11. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/Methanol 95:5 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 86%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-piperidid (33)

0,6 g der Verbindung 32 wurden in 10 ml Pyridin und 1 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 92%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydroiodid (34)

0,58 g der Verbindung 33 wurden in 15 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 0,8 g Methyljodid versetzt und 15 Minuten im Wasserbad unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde Verbindung 34 durch Zugabe von 100 ml Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydroiodid (35)

0,49 g der Verbindung 34 wurden in 10 ml abs. Ethanol mit 0,15 g Ammoniumacetat analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 86%, Smp. ab  $128^{\circ}\text{C}$ .

- 32 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-  
(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydrochlorid (36)

2,0 g der Verbindung 35 wurden in 300 ml Ethylacetat suspendiert, die Suspension mit 40 ml 0,2 N NaOH versetzt und ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Die erhaltene freie Base von 35 wurde in 10 ml TFA gelöst, die Lösung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschliessend das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in 10 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und Verbindung 36 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 79%, Smp. ab 155°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-  
4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydrochlorid (37)

0,25 g der Verbindung 36 wurden analog 16 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 86%, Smp. ab 135°C.

Beispiel 6

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-  
und -(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (40, 41)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspar-  
tyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin (38)

0,7 g der Verbindung 31 wurden in 10 ml Pyridin und 1 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 93%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspar-  
tyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-hydro-  
iodid (39)

- 33 -

0,7 g der Verbindung 38 wurden analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 99%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (40)

0,86 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 39 wurden in 10 ml Methanol mit 0,3 g Ammoniumacetat analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Das anfallende Hydroiodid wurde in das Hydrochlorid übergeführt, indem die Verbindung in 5 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml methanolischer Salzsäure versetzt und das Hydrochlorid sofort mit Ether gefällt wurde. Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 59%, Smp. ab 168°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (41)

0,3 g der Verbindung 40 wurden in 4 ml TFA gelöst und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 5 ml Ethanol gelöst, der Lösung 0,5 ml 2 N Ethylacetat/HCl zugefügt und Verbindung 41 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, Smp. ab 112°C.

Beispiel 7

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -(D,L)-aspartyl- und - $\beta$ -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester (44-46)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-methylester (42)

- 34 -

1,5 g der Verbindung 30 wurden in 15 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 89%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydroiodid (43)

1,56 g der Verbindung 42 und 2,0 g Methyliodid wurden in 30 ml Aceton analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 78%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydroiodid (44)

1,5 g der Verbindung und 0,5 g Ammoniumacetat wurden in 10 ml Methanol analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 76%, Smp. ab 126°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (45)

0,9 g der Verbindung 44 wurden in 200 ml Ethylacetat suspendiert, die Suspension mit 20 ml 0,2 N NaOH versetzt und ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei 0,7 g der freien Base von 44 erhalten wurden. Man löste die Verbindung in 7 ml TFA, rührte 2 Stunden bei Raumtemperatur und destillierte anschliessend das Lösungsmittel ab. Der Rückstand wurde in 8 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und Verbindung 45 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 77%, Smp. ab 78°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (46)

- 35 -

0,25 g der Verbindung 45 wurden in 5 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 50 Tropfen 2 N methanolischer Salzsäure versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschliessend wurde Verbindung 46 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. ab 84°C.

#### Beispiel 8

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalaninyl-(D)-prolin-t-butylester (53)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucin (47)

5,0 g (D,L)-Leucin wurden in 200 ml 0,42 M Natriumcarbonatlösung gelöst, eine Lösung von 10,4 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 150 ml Ether zugesetzt und der Ansatz 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei das Natriumsalz der Verbindung 47 ausfiel. Anschliessend wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und unter Erwärmen in Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit 1 N HCl angesäuert, der gebildete Niederschlag nach mehrstündigem Stehen abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 52%, Smp. 103-104°C (aus Ethylacetat/Hexan).

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester (48)

3,3 g der Verbindung 28, 1,56 ml NMM und 2,16 g HOBT wurden in 10 ml DMF gelöst, die Lösung auf 0°C abgekühlt und unter Rühren mit einer Lösung von 4,1 g der Verbindung 47 in 30 ml THF sowie 2,77 g DCC versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde analog 17 aufgearbeitet. Ausbeute: 97%, Smp. 105-107°C (aus Ethylacetat/Hexan).

- 36 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (49)

6,3 g der Verbindung 48 wurden in 50 ml Methanol gelöst, 25 ml 1 N NaOH zugefügt und bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt (dc Kontrolle). Die Aufarbeitung und säulenchromatographische Reinigung erfolgte analog 18. Ausbeute: 61%, Smp. 146-148°C (aus Methanol/Wasser).

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (50)

0,68 g (D)-Prolin-t-butylester, 0,67 g HOBT, 0,82 g DCC und 1,78 g der Verbindung 49 in 25 ml THF wurden analog 17 umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/Methanol 97:3 als Eluierungsmittel). Ausbeute: 85%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (51)

1,0 g der Verbindung 50 wurde analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 95%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester-hydroiodid (52)

1,0 g der Verbindung 51 und 1,1 g Methyliodid wurden in 20 ml Aceton analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 60%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester-hydroiodid (53)

0,67 g der Verbindung 52 wurden in 10 ml Methanol gelöst,

- 37 -

die Lösung mit 0,1 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und Verbindung 53 mit Ether ausgefällt. Ausbeute: 65%, Smp. ab 150°C.

#### Beispiel 9

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (57)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (54)

0,9 g 4-Methylpiperidin, 1,4 g HOBT, 1,71 g DCC und 1,94 g der Verbindung 10 wurden in 35 ml THF analog 17 umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform als Eluierungsmittel). Ausbeute: 84%, Smp. 202-203°C (aus Ethylacetat/Hexan).

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (55)

1,85 g der Verbindung 54 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet, wobei ein festes Produkt erhalten wurde. Es wurden 25 ml Methanol zugefügt, Verbindung 55 abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 95%, Smp. 235-236°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid-hydroiodid (56)

1,8 g des Thioamids 55 wurden unter Erwärmen in 3 ml DMF gelöst, 100 ml Aceton und 6 g Methyljodid zugefügt und der Ansatz 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt. Anschliessend wurde in 250 ml Ether gegossen,

- 38 -

der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, amorphes Pulver.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid-hydroiodid (57)

1,2 g der Verbindung 56 wurden in 30 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,21 g Ammoniumacetat versetzt und 3 Stunden im Wasserbad bei 60°C erwärmt, wobei schon nach kurzer Zeit ein Niederschlag ausfiel, der sich allmählich wieder löste. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in abs. Ethanol gelöst und Verbindung 57 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. 198-204°C (vorher Sintern).

Beispiel 10

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure und -methylester (62, 63)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-methylester (58)

2,2 g (D,L)-1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-methylester und 1,1 g NMM wurden in 20 ml Ethylacetat gelöst, dem Reaktionsansatz eine Lösung von 4,0 g des aus Verbindung 3 und Thionylchlorid erhaltenen Säurechlorids in 50 ml Ethylacetat zugetropft und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 65%, Smp. 169-173°C.



- 39 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (59)

2,0 g der Verbindung 58 wurden in einer Mischung aus je 20 ml 1 N NaOH und Methanol suspendiert und bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt, wobei schon nach kurzer Zeit eine klare Lösung erhalten wurde. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert, 100 ml Wasser zugesetzt und mit 1 N HCl angesäuert. Nach mehrstündigem Stehen wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 93%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (60)

1,3 g der Verbindung 59 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 98%, amorphes Produkt.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-hydroiodid (61)

1,3 g des Thioamids 60 wurden in 20 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 4,0 g Methyljodid versetzt und 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt. Anschliessend wurde in 200 ml Ether gegossen, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 86%, amorphes Pulver.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-hydrochlorid (62)

- 40 -

1,14 g der Verbindung 61 wurden in 40 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,19 g Hydroxylammoniumacetat versetzt und der Reaktionsansatz 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde eine Lösung von 0,145 g  $\text{NaHCO}_3$  in 5 ml Wasser zugegeben, etwa 20 ml Lösungsmittel abdestilliert und 50 ml Wasser zugefügt. Nach 3-tägigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde das auskristallisierte Betain von Verbindung 62 abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 64%, Smp. 162-178°C.

Die Überführung in das Hydrochlorid erfolgte wie unter 15 beschrieben. Ausbeute: 92%, Smp. ab 165°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-methylester-hydrochlorid (63)

0,3 g der Verbindung 62 wurden in 7,5 ml abs. Methanol gelöst, 40 Tropfen 3 N methanolische Salzsäure zugefügt und der Ansatz 30 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert, Verbindung 63 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 86%, Smp. ab 90°C.

#### Beispiel 11

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (65) sowie -ethyl- (64) und -methylester (66)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester-hydrochlorid (64)

2,0 g der Verbindung 4 wurden in einer Mischung aus je 15 ml Dioxan und Methanol gelöst, 20 ml ethanolische Ammoniaklösung zugefügt und in Gegenwart von Raney-Nickel-Katalysator unter Normalbedingungen hydriert. Nach

- 41 -

vollständiger Hydrierung (dc Kontrolle) wurde vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert und der ölige Rückstand in wenig Ethanol aufgenommen. Die erhaltene Lösung wurde mit 2 N Ethylacetat/HCl angesäuert und Verbindung 64 mit Ether ausgefällt, wobei das Produkt erst nach längerem Stehen fest wurde. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 58%, Smp. ab 115°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydrochlorid (65)

1,14 g der Verbindung 64 wurden in einer Mischung aus je 12 ml 1 N NaOH und Methanol suspendiert und der Ansatz bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die erhaltene Lösung mit 3 N HCl angesäuert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Zur Entfernung von restlichem Wasser wurde 2 x mit Isopropanol/Toluol 1:1 kodestilliert. Der feste Rückstand wurde mit 40 ml abs. Ethanol extrahiert, von ungelöstem NaCl abfiltriert und Verbindung 65 aus dem Filtrat nach Einengen auf etwa 10 ml mit Ether gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 75%, Smp. ab 155°C.

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester-hydrochlorid (66)

0,32 g der Verbindung 65 wurden in 10 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 2 ml 3 N methanolischer Salzsäure versetzt und 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde Verbindung 66 durch Zugabe von Ether ausgefällt, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, Smp. ab 130°C.

ZUSAMMENSTELLUNG VON  
ELEMENTARANALYSEN- und DC-DATEN

NR	FORMEL	M.G.		C	H	N	S	$\frac{DC}{R_f(LS)}$
3	$C_{20}H_{16}N_2O_4S$	380.426	Ber. Gef.	63.15 63.40	4.24 4.48	7.36 7.66	8.43 8.30	0.32(2)
4	$C_{28}H_{29}N_3O_5S$	519.625	Ber. Gef.	64.76 64.46	5.63 5.85	8.09 8.09	6.17 6.45	0.83(2)
5	$C_{26}H_{25}N_3O_5S \cdot H_2O$	509.587	Ber. Gef.	61.28 61.17	5.34 5.01	8.24 8.11	6.29 6.66	0.56 0.53(2)
8	$C_{26}H_{29}N_4O_5S \cdot HI$	636.515	Ber. Gef.	49.06 49.48	4.59 4.92	8.80 9.01	5.04 5.28	0.39(1)
10	$C_{22}H_{18}N_3O_5S$	436.471	Ber. Gef.	60.54 60.27	4.16 4.31	9.63 9.23	7.35 7.48	0.12(2)
11	$C_{29}H_{34}N_4O_5S$	566.683	Ber. Gef.	61.47 61.93	6.05 5.96	9.89 9.73	5.66 5.67	0.65(2)
15	$C_{25}H_{27}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	580.067	Ber. Gef.	51.77 51.31	5.21 5.50	12.07 11.81	5.53 5.40	0.17(1)
16	$C_{26}H_{29}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	594.094	Ber. Gef.	52.57 52.03	5.43 5.74	11.79 11.56	5.40 5.52	0.27(1)
17	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Ber. Gef.	62.48 62.48	5.59 5.86	9.72 9.68	5.56 5.80	0.79(2)
18	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Ber. Gef.	61.30 61.11	5.14 5.46	10.21 10.14	5.84 5.75	0.50 0.39(2)
21	$C_{28}H_{32}N_5O_6S \cdot HI$	693.568	Ber. Gef.	48.49 48.83	4.65 4.88	10.10 10.43	4.62 4.93	0.24(1)
22	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Ber. Gef.	62.48 62.24	5.59 5.88	9.72 10.04	5.56 5.60	0.75(2)
23	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Ber. Gef.	61.30 61.14	5.14 5.23	10.21 9.81	5.84 6.20	0.49(2)
26	$C_{28}H_{31}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	620.132	Ber. Gef.	54.23 54.04	5.53 5.48	11.29 11.12	5.17 5.02	0.20(1)

NR	FORMEL	M.G.		C	H	N	S	$\frac{DC}{R_f}$ (LS)
27	$C_{29}H_{33}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	634.159	Ber. Gef.	54.93 54.76	5.72 5.83	11.04 11.04	5.06 4.96	0.25(1)
29	$C_{18}H_{21}NO_6S$	379.437	Ber. Gef.	56.98 56.49	5.58 5.38	3.69 3.67	8.45 8.51	0.40(2)
30	$C_{29}H_{31}N_3O_7S$	565.652	Ber. Gef.	61.58 61.48	5.52 5.90	7.43 7.68	5.67 5.64	0.78(2)
31	$C_{28}H_{29}N_3O_7S \cdot H_2O$	569.641	Ber. Gef.	59.04 58.76	5.49 5.25	7.38 7.26	5.63 5.86	0.27(2)
32	$C_{33}H_{38}N_4O_6S$	618.759	Ber. Gef.	64.06 63.78	6.19 6.41	9.05 8.92	5.18 5.30	0.79(2)
35	$C_{33}H_{41}N_5O_6S \cdot HI \cdot H_2O$	781.719	Ber. Gef.	50.70 50.31	5.67 5.64	8.96 9.07	4.10 4.40	0.43(1)
36	$C_{29}H_{33}N_5O_6S \cdot HCl$	616.143	Ber. Gef.	56.53 56.94	5.56 5.82	11.37 11.21	5.20 5.44	0.23(1)
37	$C_{30}H_{35}N_5O_6S \cdot HCl$	630.170	Ber. Gef.	57.18 57.49	5.76 5.72	11.11 11.03	5.09 5.41	0.32(1)
40	$C_{28}H_{32}N_4O_7S \cdot HCl$	605.117	Ber. Gef.	55.58 54.91	5.50 5.44	9.26 9.55	5.30 5.76	0.33(1)
41	$C_{24}H_{24}N_4O_7S \cdot HCl \cdot H_2O$	576.033	Ber. Gef.	50.05 50.07	4.90 5.09	9.73 9.84	5.57 5.53	0.18(1)
44	$C_{29}H_{34}N_4O_7S \cdot HI$	710.596	Ber. Gef.	49.02 49.26	4.96 5.14	7.88 7.78	5.41 4.92	0.53(1)
45	$C_{25}H_{26}N_4O_7S \cdot HCl$	563.036	Ber. Gef.	53.33 53.42	4.83 4.61	9.95 9.75	5.69 5.63	0.31(1)
46	$C_{26}H_{28}N_4O_7S \cdot HCl$	577.063	Ber. Gef.	54.21 53.76	4.90 5.05	9.73 9.91	5.57 5.95	0.41(1)
47	$C_{16}H_{19}NO_4S$	321.399	Ber. Gef.	59.79 59.77	5.96 5.89	4.36 4.64	9.98 9.89	0.48(2)
48	$C_{27}H_{29}N_3O_5S$	507.614	Ber. Gef.	63.89 63.84	5.76 5.90	8.28 8.15	6.32 6.39	0.73(2)
49	$C_{26}H_{27}N_3O_5S$	493.587	Ber. Gef.	63.27 62.29	5.51 5.54	8.51 8.40	6.50 6.61	0.30(2)
50	$C_{35}H_{42}N_4O_6S$	646.813	Ber. Gef.	65.00 65.20	6.55 6.84	8.66 8.54	4.96 5.39	0.79(2)

- 44 -

NR	FORMEL	M.G.		C	H	N	S	DC
								$R_f(LS)$
53	$C_{35}H_{45}N_5O_6S \cdot HI$	791.757	Ber. Gef.	53.10 52.93	5.86 5.99	8.85 8.71	4.05 4.22	0.46(1)
54	$C_{28}H_{30}N_4O_4S$	518.640	Ber. Gef.	64.84 65.00	5.83 6.15	10.80 11.28	6.18 6.40	0.79(2)
57	$C_{28}H_{33}N_5O_4S \cdot HI$	663.584	Ber. Gef.	50.68 50.37	5.16 5.21	10.55 10.35	4.83 5.20	0.53(1)
58	$C_{31}H_{27}N_3O_5S$	553.642	Ber. Gef.	67.25 67.44	4.92 5.13	7.59 7.72	5.79 5.44	0.83(2)
59	$C_{30}H_{25}N_3O_5S \cdot H_2O$	557.631	Ber. Gef.	64.62 65.08	4.88 5.12	7.54 7.87	5.75 5.45	0.56 0.52(2)
62	$C_{30}H_{28}N_4O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	627.123	Ber. Gef.	57.46 57.22	5.13 5.17	8.93 8.67	5.11 5.40	0.65(1)
63	$C_{31}H_{30}N_4O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	641.150	Ber. Gef.	58.07 58.05	5.19 5.09	8.74 8.37	5.00 5.16	0.83(1)
64	$C_{28}H_{33}N_3O_5S \cdot HCl \cdot H_2O$	578.134	Ber. Gef.	58.17 57.90	6.28 6.03	7.27 7.05	5.55 5.82	0.33(1)
65	$C_{26}H_{29}N_3O_5S \cdot HCl \cdot H_2O$	550.080	Ber. Gef.	56.77 56.86	5.86 5.83	7.64 7.44	5.83 6.10	0.27(1)
66	$C_{27}H_{32}N_3O_5S \cdot HCl$	564.107	Ber. Gef.	57.49 57.43	6.08 5.74	7.45 7.38	5.68 5.92	0.34(1)

Übersicht weiterer, gemäss den vorher angegebenen Herstellungsverfahren synthetisierten Verbindungen, die nicht in den Beispielen 1-11 aufgeführt sind:

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\gamma$ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (68)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\gamma$ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperidid (69)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-asparagyl-4-amidino-(D,L)-phenyl-alanyl-(D)-prolin-t-butylester (70)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)- $\beta$ -t-butoxy-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin (71)

---

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-glutaminyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (72)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (73)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin (74)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin-methylester (75)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin-t-butylester (76)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (77)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure (78)

- 46 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester (79)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methylpiperidid (80)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (81)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (82)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (83)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (84)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (85)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (86)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperid-2-on-3-carbonsäure (87)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure (88)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (89)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (90)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (91)



- 47 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (92)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (93)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester (94)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (95)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (96)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (97)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-ethylester (98)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (99)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (100)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-n-butylester (101)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester (102)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-pipecolinsäure-n-butylester (103)

- 48 -

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-ethylester (104)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (105)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (106)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-n-butylester (107)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-methylester (108)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (109)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-ethylester (110)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-n-butylester (111)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-4-methylpiperidid (112)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (113)

N- $\alpha$ -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-prolin (114)

- 49 -

Als Beispiele der allgemeinen Formel I mit para-ständiger basischer Gruppierung ( $R^1 = (a) \text{ bis } (e)$ ) sind, sofern sie nicht bereits aufgeführt wurden, zu nennen:

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester

- 50 -

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-alanyl-  
bzw. - $\delta$ -alanyl-

---

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrroli-  
dide  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide  
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide  
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester  
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-leucyl-

- 51 -

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrroli-  
dide  
phenylalanin-alkyl-. hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide  
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide  
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester  
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und -----  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-aspartyl-  
bzw. - $\beta$ -alkoxy-aspartyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrroli-  
dide  
phenylalanin-alkyl-. hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide  
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide  
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester  
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

- 52 -

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und

-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,

-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-asparaginy-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-. hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glutamyl-  
bzw.  $\gamma$ -alkoxy-glutamyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-. hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide

- 53 -

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester  
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

N- $\alpha$ -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glutaminyl-

---

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidi-  
dide  
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide  
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-  
-piperazide  
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,  
-aralkyl- und -arylester  
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren  
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester  
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure  
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und  
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester  
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,  
-aralkyl- bzw. -arylester

Die aufgeführten Verbindungen können als Racemate  
sowie nach entsprechender Trennung als reine Enantiomere  
bzw. Diastereomere vorliegen.

Im folgenden sind die biologischen Eigenschaften von repräsentativen erfindungsgemässen Verbindungen aufgeführt:

In Tabelle 1 ist die Hemmung der Gerinnungsenzyme Thrombin und Trypsin anhand der Dissoziationskonstante  $K_i$  (ausgedrückt in  $\mu\text{mol/l}$ ) durch die genannten Verbindungen angegeben. Alle untersuchten Verbindungen hemmen die durch beide Enzyme bewirkte Substratspaltung kompetitiv. Unter den in Tabelle 1 aufgeführten Derivaten des 4-Amidinophenylalanins finden sich eine Reihe von Verbindungen mit hoher Antithrombinaktivität, d. h. mit  $K_i$ -Werten unter 1  $\mu\text{mol/l}$ . Die Thrombinhemmung ist vergleichsweise stärker als die Hemmung von Trypsin. Die  $K_i$ -Werte für die Hemmung von Trypsin liegen gewöhnlich 1 bis 2 Grössenordnungen höher als die für die Thrombinhemmung.

Die Verbindungen, die sich vom 4-Oxamidinophenylalanin und 4-Aminomethylphenylalanin ableiten, bewirken geringere Antithrombin-Aktivität, einige von ihnen haben aber brauchbare  $K_i$ -Werte für die Thrombin-Hemmung im micromolaren Bereich.

Kurzbezeichnungen in Tabellen 1 und 2:

für  $R^1$ , Am = Amidino, Ox = Oxamidino, AMe = Aminomethyl

für  $R^2$ , Ppd = Piperidid, Ppd(4-Me) = 4-Methylpiperidid, OH = Carbonsäure, OMe = Methylester, OEt = Ethylester, OnBu = n-Butylester, OtBu = t-Butylester, Pro = Prolin, Pip-OH = Pipecolinsäure, iNip-OH = Isonipecotinsäure, Nip-OH = Nipecotinsäure, Sar-OH = Sarcosin, Tic-OH = 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure, Phg-OH = Phenylglycin, Pip(4-Me)-OH = 4-Methyl-D,L-pipecolinsäure, 2-Ppn-3-COOH = piperid-2-on-3-carbonsäure

für  $R^4$ , Na = 2-Naphthyl



Tabelle 1

Hemmung von Thrombin und Trypsin durch Na-geschützte 4-substituierte Phenylalaninderivate

Ver- bindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	K <sub>i</sub> [μmol/l]	
						Thrombin	Trypsin
NAPAP	Am	Ppd	1	H	Na	0,006	0,69
36	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OH	Na	0,45	7,5
41	Am	OH	1	CH <sub>2</sub> CO-OH	Na	640	300
45	Am	OMe	1	CH <sub>2</sub> CO-OH	Na	60	107
37	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OMe	Na	0,24	5,9
46	Am	OMe	1	CH <sub>2</sub> CO-OMe	Na	7,1	27
35	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	0,47	12
40	Am	OH	1	CH <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	17	66
44	Am	OMe	1	CH <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	3,8	46
70	Am	D-Pro-OtBu	1	CH <sub>2</sub> CO-NH <sub>2</sub>	Na	0,51	85
69	Am	Ppd	1	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	0,53	3,4
53	Am	D-Pro-OtBu	1	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Na	0,56	55
57	Am	Ppd(4-Me)	1	H	Na	0,0016	0,06
26	Am	iNip-OH	1	H	Na	2,0	2,6
27	Am	iNip-OMe	1	H	Na	0,29	0,71
15	Am	Sar-OH	1	H	Na	5,9	6,5
16	Am	Sar-OMe	1	H	Na	0,19	0,9
21	Am	D,L-Pip-OH	1	H	Na	1,4	4,3
80	Ox	Ppd(4-Me)	1	H	Na	48	230
8	Am	D,L-Pip-OH	0	-	Na	5,8	34
83	Am	Ppd(4-Me)	0	-	Na	0,34	10,4
84	Am	iNip-OH	0	-	Na	170	160
85	Am	iNip-OMe	0	-	Na	3,2	3,1
89	Am	Nip-OH	0	-	Na	34	120
90	Am	Nip-OMe	0	-	Na	0,68	16

- 56 -

Tab. 1 (Fort.)

Ver- bindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	K <sub>i</sub> [μmol/l]	
						Thrombin	Trypsin
113	AMe	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	11
106	AMe	iNip-OH	0	-	Na	140	62
107	AMe	iNip-OMe	0	-	Na	33	2,2
100	AMe	Nip-OH	0	-	Na	50	41
101	AMe	Nip-OMe	0	-	Na	3,9	30
65	AMe	D,L-Pip-OH	0	-	Na	47	160
66	AMe	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	1,3	82
109	AMe	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	42	140
110	AMe	D,L-Tic-OH	0	-	Na	90	41
98	Ox	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	180
96	Ox	iNip-OH	0	-	Na	410	350
97	Ox	iNip-OMe	0	-	Na	4,8	530
92	Ox	Nip-OH	0	-	Na	190	430
93	Ox	Nip-OMe	0	-	Na	28	400
94	Ox	D,L-Pip-OH	0	-	Na	19	340
95	Ox	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	2,2	330
62	Ox	D,L-Tic-OH	0	-	Na	3,2	200
63	Ox	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	22	97

- 57 -

In Tabelle 2 sind für einige repräsentative, erfindungsgemässe Verbindungen auch ihre Hemmwirkung gegenüber Faktor  $X_a$  und Faktor  $XII_a$ , Protein  $C_a$ , Plasmin, Plasmakallikrein, tPA und glandulärem Kallikrein dargestellt. Gewöhnlich werden die anderen Enzyme wesentlich schwächer gehemmt, so Protein  $C_a$ , Plasmin, Plasmakallikrein und Faktor  $X_a$  ( $K_i$  2 Grössenordnungen grösser). Praktisch unwirksam sind die Derivate gegenüber Faktor  $XII_a$ , tPA und glandulärem Kallikrein. Für die Mehrzahl der Verbindungen kann man daher von selektiven Thrombinhemmstoffen sprechen.

---

Tabelle 2

Hemmung von Thrombin, Trypsin, Plasmin, Faktor Xa, Faktor XIIa, Protein Ca, tPA, Plasma- und glanduläres Kalikrein

K <sub>i</sub> [μmol/l]														
Ver- bindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Faktor					Protein		gland. Kallikrein	Plasma Kallikrein
						Thrombin	Trypsin	Plasmin	Xa	XIIa	Ca	tPA		
NAPAP	Am	Ppd	1	H	Na	0,006	0,69	30	7,9	500	4,8	70	93	5,6
36	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OH	Na	0,45	7,5	260	4,8	25	270	6,6	>1000	47
37	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OMe	Na	0,24	5,9	170	2,2	34	39	13	1000	33
35	Am	Ppd	1	CH <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	0,47	12	190	105	>1000	210	670	200	90
44	Am	OMe	1	CH <sub>2</sub> CO-OtBu	Na	3,8	46	110	85	330	310	180	69	5,0
57	Am	Ppd(4-Me)	1	H	Na	0,0016	0,06	25	22	>1000	5,1	530	170	14
26	Am	1N1p-OH	1	H	Na	2,0	2,6	240	61	>1000	87	630	>1000	51
27	Am	1N1p-OMe	1	H	Na	0,29	0,71	16	67	>1000	7,0	500	130	20
15	Am	Sar-OH	1	H	Na	5,9	6,5	87	31	700	620	29	730	12
16	Am	Sar-OMe	1	H	Na	0,19	0,9	15	13	40	6,8	26	200	37
83	Am	Ppd(4-Me)	0	-	Na	0,34	10,4	70	31	>1000	310	>1000	130	190
90	Am	1N1p-OMe	0	-	Na	0,68	16	180	26	>1000	890	>1000	19	160

Tab. 2 (Fort.)

Ver- bindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Thrombin	Trypsin	Plasmin	K <sub>i</sub> [ $\mu$ mol/l]				gland. Plasma Kallikrein
									Xa	XIIa	Protein Ca	tPA	
113	AMe	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	11	75	47	>1000	930	>1000	500 400
101	AMe	Nip-OMe	0	-	Na	3,9	30	13	80	>1000	>1000	>1000	400 >1000
66	AMe	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	1,3	62	234	17	>1000	290	>1000	240 >1000
98	Ox	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	180	>1000	140	>1000	>1000	>1000	320 150
97	Ox	1Nip-OMe	0	-	Na	4,8	530	>1000	270	>1000	>1000	>1000	530 >1000
95	Ox	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	2,2	330	540	39	>1000	>1000	>1000	890 >1000
62	Ox	D,L-Tic-OH	0	-	Na	3,2	200	>1000	120	>1000	>1000	>1000	470 >1000

Im Vergleich zu früher geprüften Derivaten von Benza-  
midin-enthaltenden Aminosäuren ( $LD_{50}$  10 - 50 mg/kg nach  
i.v.-Applikation) ist die Toxizität bei den erfindungs-  
mässigen Verbindungen deutlich geringer. So wurde  
beispielsweise für Verbindung 26 ein  $LD_{50}$ -Wert von 210  
mg/kg nach intravenöser Applikation gefunden.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Untersuchungen  
zur Pharmakokinetik von zwei erfindungsgemässen Verbindun-  
gen und als Vergleich dazu die Werte mit NAPAP zusammenge-  
stellt. Die Verbindungen wurden subcutan bzw. peroral an  
Ratten verabreicht. Nach der Verabreichung wurde den  
Versuchstieren in Zeitabständen von 2 bis maximal 360  
Minuten Blutproben entnommen, in welchen der Blutspiegel  
der zu prüfenden Verbindungen mittels HPLC bestimmt wurde.

Tabelle 3

Konzentration (ng/ml) der ausgewählten Verbindungen im  
Plasma von Ratten nach subkutaner (5 mg/kg) bzw. peroraler  
(100 mg/kg) Verabreichung (siehe auch Abbildung 2)

Zeit (min)	NAPAP		Verbindung 26		Verbindung 36
	s.c.	p.o.	s.c.	p.o.	s.c.
15	294	0	1344	1867	260
30	375	0	2023	1584	590
45	324	0	2072	848	596
60	361	0	1859	537	551
90	330	0	1541	301	431
120	327	0	1437	235	363
180	230	0	1297	189	259
240	173	-	1095	184	201
300	-	-	936	201	185
360	-	-	184	206	-

Im Vergleich zu NAPAP zeigt das geprüfte Derivat 26 ein verbessertes pharmakokinetisches Verhalten. Nach subkutaner Verabreichung werden relativ hohe, lang anhaltende Blutspiegel gefunden. Nach oraler Gabe kann NAPAP nicht im Plasma nachgewiesen werden, während die beispielhaft geprüften erfindungsmässigen Verbindungen verhältnismässig hohe Konzentrationen erreichen.

In vitro sind eine Reihe von repräsentativen erfindungsgemässen Verbindungen gerinnungshemmend wirksam. In allen Fällen wurde die Thrombinzeit (TT) am effektivsten verlängert. Dies entspricht der Selektivität dieser Inhibitoren, die unter den Gerinnungsfaktoren Thrombin am stärksten hemmen. Eine Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), bei der neben Thrombin auch die an der Frühphase der Gerinnung beteiligten Enzyme zum Tragen kommen, wird durch höhere Konzentrationen der Inhibitoren erreicht. Das gilt auch für die Beeinflussung der Prothrombinzeit (PT), die den extrinsischen Gerinnungsweg repräsentiert. Beispielhaft ist das für Verbindung 57 in Abb. 1 gezeigt.

Zweckmässig werden die nach einer der erfindungsgemässen Verfahren hergestellten Phenylalanin-Derivate als solche oder als Salze mit einer physiologisch verträglichen anorganischen oder organischen Säure unter Verwendung geeigneter pharmazeutischer Hilfsstoffe in geeignete Applikationsformen überführt. Entsprechend dem pharmakokinetischen Verhalten sind das insbesondere transdermale Therapie-Systeme wie Pflaster, aber auch Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Lösungen usf.

Die Dosierung hängt ab von der Antithrombinaktivität, der Toxizität, den möglichen Blutspiegelwerten, der Bioverfügbarkeit und der Applikationsart der verwendeten erfindungsgemässen Verbindung sowie ganz allgemein von den Blutwerten, dem Gewicht und dem Allgemeinzustand des Patienten, so dass die Dosierung letztlich vom praktizierenden Arzt bestimmt werden muss. Im Prinzip entspricht die Dosierung derjenigen bekannter thrombinhemmender

- 62 -

Verbindungen und liegt zwischen ungefähr 0,2 mg/kg und ungefähr 20 mg/kg Körpergewicht, wobei gegebenenfalls auch höhere Dosen verabreicht werden können. Bei einem erwachsenen Patienten ergeben sich somit tägliche Dosierungen einer erfindungsgemässen Verbindung von ungefähr 50 mg bis ungefähr 1600 mg oder mehr.

Anhand von Verbindung 26 soll beispielhaft die Überführung in 4 pharmazeutische Darreichungsformen gezeigt werden.

#### Beispiel 1

Tabletten mit 100 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

##### Zusammensetzung:

1 Tablette enthält 100 mg Wirkstoff, 60 mg Milchzucker, 30 mg Weizenstärke und 1 mg Magnesiumstearat.

##### Herstellungsverfahren

Der mit Milchzucker und Weizenstärke vermischte Wirkstoff wird mit einer 20%igen ethanolischen Lösung von Polyvinylpyrrolidon gleichmässig durchfeuchtet, durch ein Sieb der Maschenweite 1,5 mm gedrückt und bei 40°C getrocknet. Das so erhaltene Granulat wird mit Magnesiumstearat vermischt und zu Tabletten verpresst.

#### Beispiel 2

Dragees mit 50 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

##### Zusammensetzung:

1 Dragee enthält 50 mg Wirkstoff, 30 mg Milchzucker und 15 mg Weizenstärke.

##### Herstellungsverfahren

Der mit Milchzucker und Weizenstärke vermischte Wirkstoff wird in der unter Beispiel 1 beschriebenen Weise granuliert und zu ovalen Tablettenkernen verpresst, die anschliessend dragiert werden. Für den Dragiervorgang wird eine Zuckermischung, bestehend aus 48 g Puderzucker, 18 g Gummi arabicum, 48 g Weizenstärke und 4 g Magnesiumstearat sowie als Bindemittel eine Mischung aus gleichen Teilen Mucilago Gummi arabici und Wasser verwendet.



Beispiel 3

Suppositorien (Zäpfchen) mit 100 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

Zusammensetzung:

1 Zäpfchen enthält 100 mg Wirkstoff und 0,9 g Zetylphthalat als Grundlage.

Herstellungsverfahren

1,0 g des feinst gepulverten Wirkstoffs werden mit der doppelten Menge der verflüssigten Grundlage verrieben. Die Verreibung wird mit dem Rest der verflüssigten Grundlage anteilweise gemischt und bis zur gleichmässigen Beschaffenheit bearbeitet. Nahe der Grenze der Giessbarkeit wird die Mischung in eine geeignete Form gegossen und bis zum Erkalten stehengelassen.

---

Beispiel 4

Injektions- bzw. Infusionslösung mit 10 mg/ml der Verbindung 26 als Wirkstoff

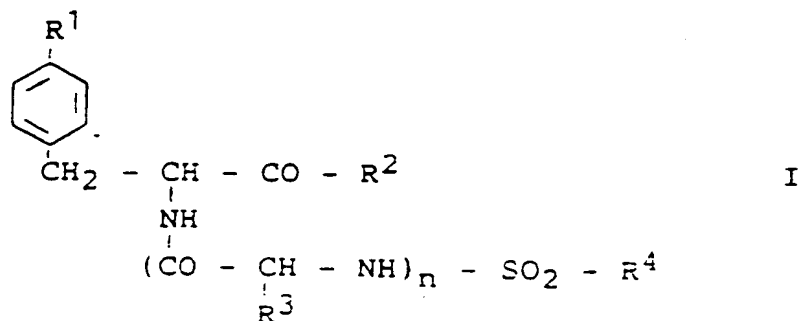
Herstellungsverfahren

1,0 g Wirkstoff werden in 100 ml Aqua ad injectionem gelöst, die Lösung filtriert und gegebenenfalls in Ampullen zu je 2 ml abgefüllt. Die mit der Wirkstofflösung gefüllten und verschlossenen Gefässe (Infusionsflaschen, Ampullen) werden der Dampfsterilisation bei 121 bis 124°C unterzogen.

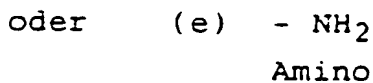
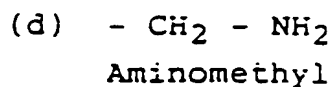
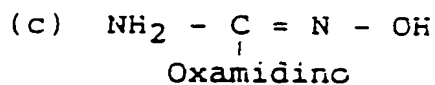
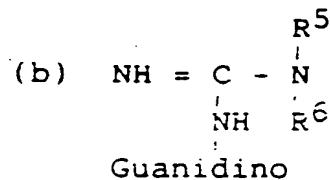
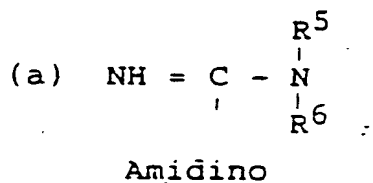
- 64 -

PATENTANSPRÜCHE

1. D,L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der Formel



in welcher

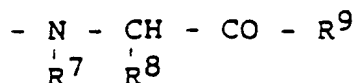
R<sup>1</sup> eine basische Gruppe der Formel

darstellt, wobei R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> in den Formeln (a) und (b) je Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest bezeichnen,

R<sup>2</sup> (f) OH, O-Alkyl, O-Cycloalkyl, O-Aralkyl ist,

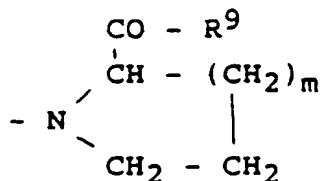
(g) eine Gruppe der Formel

- 65 -



darstellt, in welcher  $\text{R}^7$  Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest und  $\text{R}^8$  einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest, einen 1- oder 2-Hydroxyethylrest, einen Methylmercaptoethylrest, einen Aminobutylrest, einen Guanidinopropylrest, einen Carboxy(niedrigen)alkylrest, einen Carboxamido(niedrigen)alkylrest, einen Phenyl(niedrigen)alkylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, einen Cyclohexyl- oder Cyclohexylmethylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, oder einen N-Heteroaryl(niedrigen)alkylrest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl, z.B. Imidazolylmethyl oder Indolylmethyl, bezeichnen, wobei die Gruppe (g) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist,

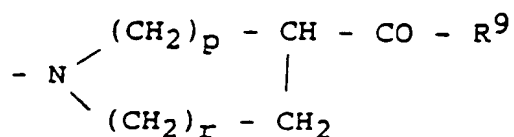
(h) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist, wobei die Gruppe (h) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist,

(i) eine Gruppe der Formel

- 66 -



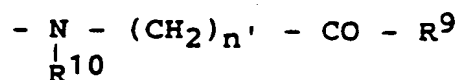
darstellt, in welcher  $p = r = 1$ ,  $p = 1$  und  $r = 2$  oder  $p = 2$  und  $r = 1$  sind und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist,

(k) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 mit einem niederen Alkyl-, Hydroxyalkyl- oder Hydroxyl-rest substituiert ist,

wobei an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (h), (i), (k) gegebenenfalls ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder Cyclohexyl, in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert ist,

(l) eine Piperazylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in p-Stellung mit einem niederen Alkylrest, einem Arylrest oder einem Alkoxy-carbonylrest substituiert ist,

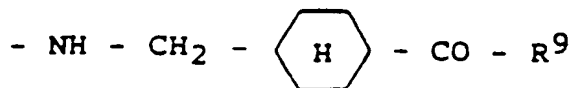
(m) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher  $n'$  die Zahlen 1 bis 6 und  $\text{R}^{10}$  Wasserstoff oder den Methyl- oder Cyclohexylrest bezeichnen und  $\text{R}^1 = \text{(b) bis (e)}$  ist,

- 67 -

(n) eine Gruppe der Formel



darstellt, wobei  $\text{R}^9$  in den Formeln (g), (h), (i), (l), (m) und (n) eine Hydroxyl-, geradkettige oder verzweigte niedrige Alkoxy-, Cycloalkoxy- oder Aralkoxy-Gruppe bezeichnet,

oder

(o) eine Kombination von 2 bis 20, vorzugsweise 2 bis 5, insbesondere 2 oder 3, der von den unter (g), (h), (i), (k), (l), (m) und (n) definierten Gruppen abgeleiteten, durch Amidbindungen verknüpften Resten ( $\text{R}^9 =$  Einfachbindung) darstellt, wobei der C-terminale Rest gegebenenfalls mit einem Rest  $\text{R}^9$  verknüpft ist,

$\text{R}^3$  Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkyl-, Aralkyl-, Carboxyalkyl-, Alkoxy-carbonyl-alkyl-, Carboxamido-alkyl-, Heteroarylalkyl- oder einen 1- oder 2-Hydroxyethyl-Rest darstellt, wobei n die Zahl 0 oder 1 bezeichnet und die gegebenenfalls eingeschobene Aminosäure racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist, und

$\text{R}^4$  einen Arylrest, z.B. Phenyl, Methylphenyl,  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Naphthyl oder 5-(Dimethylamino)-naphthyl, oder einen Heteroarylrest, z.B. Chinolyl, darstellt, wobei niedrig 1-4 Kohlenstoffatome bedeutet,

und deren Salze mit Mineralsäuren oder organischen Säuren.

2. Phenylalanin-Derivate nach Patentanspruch 1, in welchen

- 68 -

$R^2$  O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl, falls  $n=0$  ist, oder einen heterocycloaliphatischen Rest der Formeln (h), (i), (k) und (l), darstellt,

$R^4$   $\beta$ -Naphthyl bezeichnet, und

$n$  die Zahl 1 bedeutet, falls  $R^2$  verschieden von O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl ist.

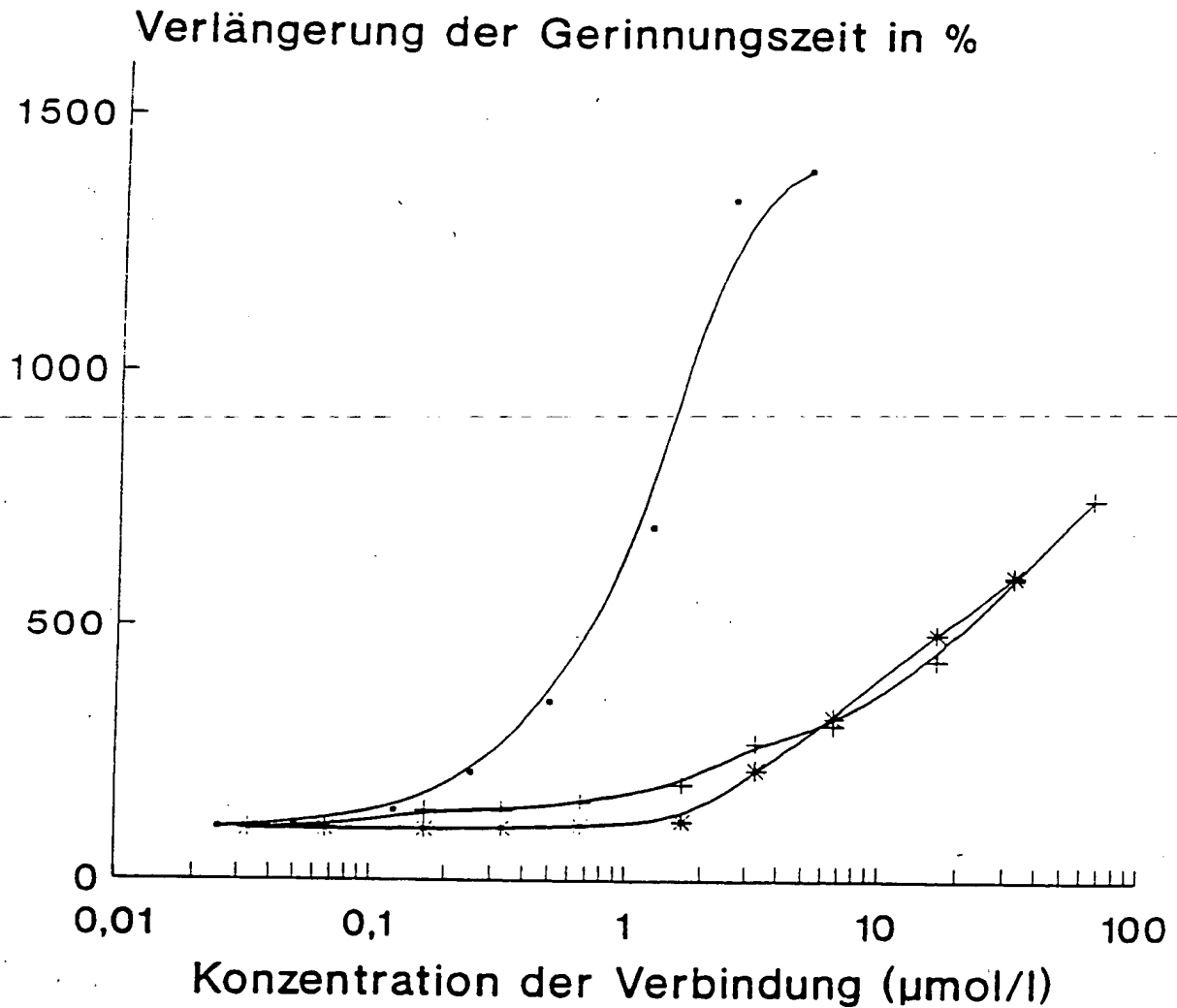
3. Verwendung der Phenylalanin-Derivate nach Patentanspruch 1 oder 2 zur Herstellung von oral, anal, subkutan, oder intravenös verabreichbaren antithrombotisch wirksamen Arzneimitteln.

4. Oral, anal, subkutan oder intravenös verabreichbares antithrombotisches Arzneimittel, gekennzeichnet durch eine wirksame Menge mindestens eines Phenylalanin-Derivates nach Patentanspruch 1 oder 2 und geeignete pharmazeutische Hilfsstoffe.

5. Antithrombotisch wirksames Arzneimittel nach Patentanspruch 4, in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflaster.

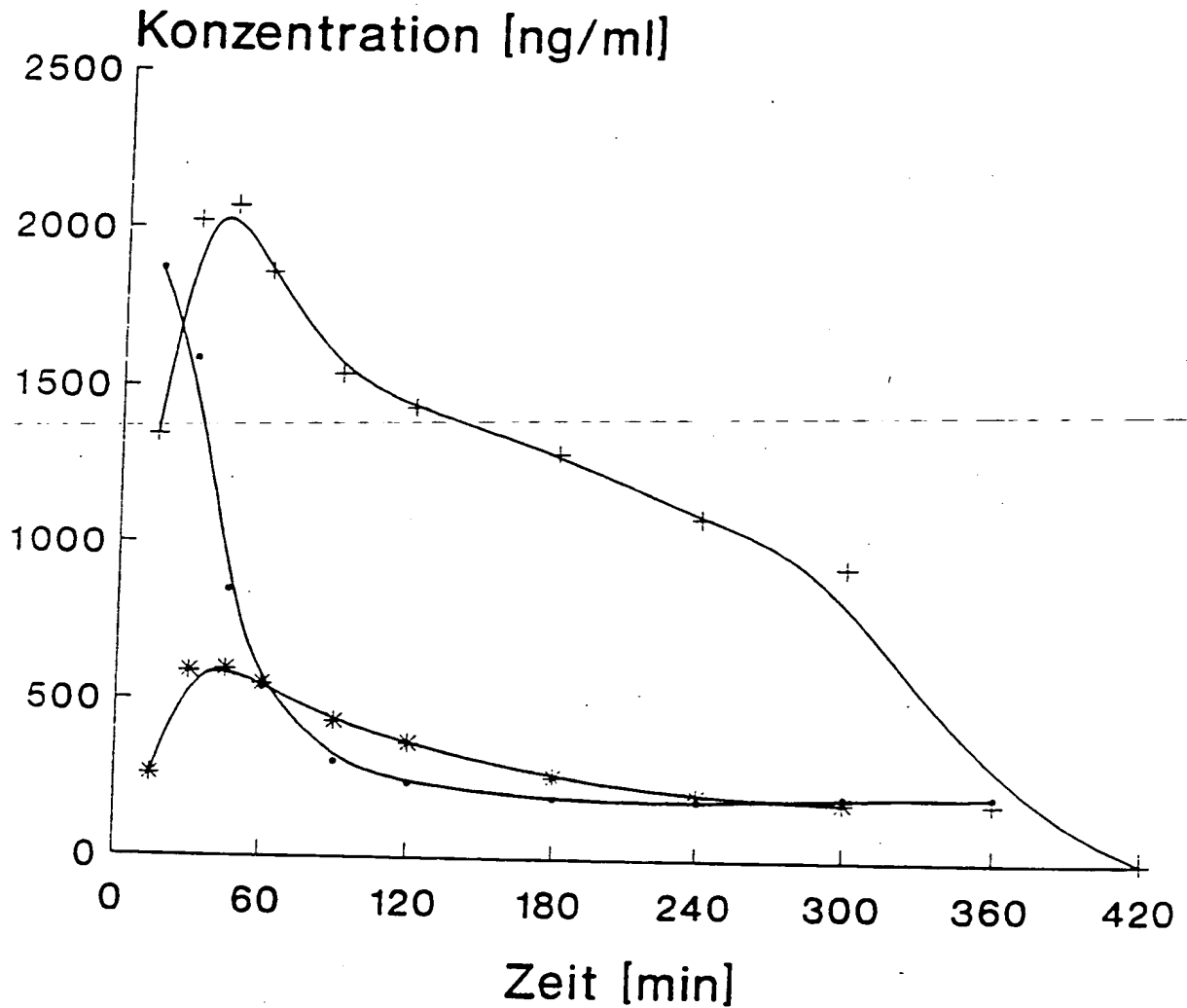
6. Verfahren zur Blutgerinnungs- resp. Thrombinhemmung bei Lebewesen, insbesondere bei Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Patentansprüche 1 oder 2 resp. eines Arzneimittels nach einem der Patentansprüche 4 oder 5.

Abbildung 1  
Verlängerung der Gerinnungszeiten durch  
Verbindung 57 in vitro



—•— Thrombin-Zeit      —+— a PTT  
—\*— Prothrombin-Zeit

Abbildung 2: Plasmaspiegel der Verbindung 26 nach p.o.+ s.c. Applikation sowie Verbindung 36 nach s.c. Applikation



—•— 100 mg/kg p.o.

—+— 5 mg/kg s.c.

—\*— Verb. 36 (s.c.)



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/CH 92/00054

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (If several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl. 5	C 07 K	5/04 A 61 K 37/64
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl. 5	C 07 K	A 61 K
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b>		
Category <sup>10</sup>	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
X	Pharmazie, Vol. 42, No. 4, 1987, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-3-amidinophenylalanine stern aktive und relativ spezifische inhibitoren von Faktor Xa", page 268, see the whole document	1-6
X	Pharmazie, Vol. 38, No. 9, 1983, (Berlin, DE), H. HORN et al.: "Synthetische Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 581-584, see the whole document	1-6
X	Pharmazie, Vol. 39, No. 1, 1984, (BERLIN, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese von N-(Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalanyl) aminocarbons äuren, -estern und -amiden als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 16-18, see the whole document	1,3-6
-/--		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p><sup>10</sup> Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
18 May 1992 (18.05.92)	23 June 1992 (23.06.92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	Pharmazie, Vol. 43, No. 6, 1988, (BERLIN, DE), B. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl)-4-Amidino-phenylalanyl-prolinen und von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-4-amidino-phenylalanyl-prolinen und deren Prüfung als Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 412-414, see the whole document	1,3-6
X	Pharmazie, Vol. 39, No. 2, 1984, (BERLIN, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalaninderivaten mit zwei C-terminal eingeschobenen Aminosäuren als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 82-86, see the whole document	1,3-6
Y	Pharmazie, Vol. 36, No. 9, 1981, (BERLIN, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese antiproteolytisch wirksamer Nalpha-arylsulfonylierter Amidinophenylalaninamide", pages 597-603, see pages 597-598	1-6
Y	DD.A, 235866 (KARL-MARX UNIVERSITÄT, LEIPZIG) 21 May 1986, see the whole document	1-6
Y	WO,A,8404301 (NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORP.) 8 November 1984, see page 2. lines 17-25	1-6
Y	P.G. SAMMES et al.: "Comprehensive Medicinal Chemistry", Vol. 2, 1990, pages 490-491 Pergamon Press, Oxford, GB, see pages 490-491	1-6
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 23, 1980 (Washington, US), R. KIKUMOTO et al.: "Thrombin inhibitors. 3. Carboxyl-containing amide derivatives of Nalpha-substituted L-arginine", pages 1293-1299, see the whole document	1-6
A	FR,A,2593812 (SANOFI) 7 August 1987, see claims	1-6
A	Pharmazie, Vol. 41, No. 4, 1986, (BERLIN, DE), R. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl-L-prolyl)- und Nalpha-Benzoyloxycarbonyl-L-prolyl)-D,L-4-amidinophenylalaninamiden als Thrombininhibitoren", pages 233-235, see the whole document	1-6

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. ☒ OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE <sup>1</sup>

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☒ Claim numbers ..... 6 ..... because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark : Although claim 6 relates to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

2. ☐ Claim numbers ..... because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claim numbers ..... because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. ☐ OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING <sup>2</sup>

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.
2. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims:
3. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:
4. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

## Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

CH 9200054

SA 57402

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 17/06/92  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DD-A- 235866		None	
WO-A- 8404301	08-11-84	AU-A- 2868684	19-11-84
		EP-A- 0149615	31-07-85
		US-A- 4593018	03-06-86
FR-A- 2593812	07-08-87	EP-A, B 0236163	09-09-87
		JP-A- 62228050	06-10-87
		US-A- 4977168	11-12-90

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH 92/00054

## I. KLASSEIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)<sup>6</sup>

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.C1.5                      C 07 K    5/04                      A 61 K    37/64

## II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff <sup>7</sup>

Klassifikationssystem

Klassifikationssymbole

Int.C1.5

C 07 K

A 61 K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gebörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen <sup>8</sup>

## III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN <sup>9</sup>

Art.<sup>9</sup>

Kennzeichnung der Veröffentlichung <sup>11</sup>, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile <sup>12</sup>

Betr. Anspruch Nr. <sup>13</sup>

X

Pharmazie, Band 42, Nr. 4, 1987, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-3-amidinophenylalanine stern aktive und relativ spezifische inhibatoren von-Faktor Xa", Seite 268, siehe Insgesamt

1-6

X

Pharmazie, band 38, Nr. 9, 1983, (Berlin, DE), H. HORN et al.: "Synthetische Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 581-584, siehe Insgesamt

1-6

X

Pharmazie, Band 39, Nr. 1, 1984, (Berlin, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese von N-(Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalanyl)aminocarbons äuren, -estern und -amiden als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 16-18, siehe Insgesamt

1,3-6

-/-

<sup>9</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen <sup>10</sup>:

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benützung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann abellegend ist
- "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

## IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18-05-1992

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

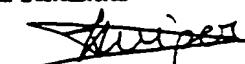
23 JUN 1992

Internationale Recherchenbehörde

EUROPAISCHES PATENTAMT

Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten

Mme N. KUIPER



## III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	Pharmazie, Band 43, Nr. 6, 1988, (Berlin, DE), B. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl)-4-Amidino-phenylalanyl-prolinen und von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-4-amidino-phenylalanyl-prolinen und deren Prüfung als Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 412-414, siehe Insgesamt ---	1,3-6
X	Pharmazie, Band 39, Nr. 2, 1984, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalaninderivaten mit zwei C-terminal eingeschobenen Aminosäuren als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 82-86, siehe Insgesamt ---	1,3-6
Y	Pharmazie, Band 36, Nr. 9, 1981, (Berlin, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese antiproteolytisch wirksamer Nalpha-arylsulfonylierter Amidinophenylalaninamide", Seiten 597-603, siehe Seiten 597-598 ---	1-6
Y	DD,A, 235866 (KARL-MARX UNIVERSITÄT, LEIPZIG) 21. Mai 1986, siehe Insgesamt ---	1-6
Y	WO,A,8404301 (NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORP.) 8. November 1984, siehe Seite 2, Zeilen 17-25 ---	1-6
Y	P.G. SAMMES et al.: "Comprehensive Medicinal Chemistry", Band 2, 1990, Seiten 490-491, Pergamon Press, Oxford, GB, siehe Seiten 490-491 ---	1-6
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Band 23, 1980, (Washington, US), R. KIKUMOTO et al.: "Thrombin inhibitors. 3. Carboxyl-containing amide derivatives of Nalpha-substituted L-arginine", Seiten 1293-1299, siehe Insgesamt ---	1-6
A	FR,A,2593812 (SANOFI) 7. August 1987, siehe Ansprüche ---	1-6
A	Pharmazie, Band 41, Nr. 4, 1986, (Berlin, DE), R. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl-L-prolyl)- und Nalpha-Benzylloxycarbonyl-L-prolyl)-D,L-4-amidinophenylalaninamiden als Thrombininhibitoren", Seiten 233-235, siehe Insgesamt -----	1-6

## WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

V. ☒ BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRÜCHEN, DIE SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN <sup>1</sup>

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgende Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen.

1. ☒ Ansprüche Nr. 6 weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich:

Bemerkung: Obwohl der Anspruch 6 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung

2. ☐ Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich:

3. ☐ Ansprüche Nr. weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4(a) PCT abgefaßt sind.

VI. ☐ BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG <sup>2</sup>

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich:
3. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
4. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

## Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

# ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

CH 9200054

SA 57402

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.  
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 17/06/92  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DD-A- 235866		Keine	
WO-A- 8404301	08-11-84	AU-A- 2868684	19-11-84
		EP-A- 0149615	31-07-85
		US-A- 4593018	03-06-86
FR-A- 2593812	07-08-87	EP-A, B 0236163	09-09-87
		JP-A- 62228050	06-10-87
		US-A- 4977168	11-12-90